

A REGULAÇÃO ENDÓCRINA DOS BALANÇOS DE CÁLCIO

João Filipe Cancela Santos Raposo



Universidade Nova de Lisboa

2004

INDÍCE	
PREFÁCIO	I
SUMÁRIO.....	VII
ABSTRACT	X
RESUMÉE	XII
CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL	1
1.1 A CLÍNICA E A HOMEOSTASE DO CÁLCIO: FACTORES CONTROLADORES E ORGÃOS-ALVO	3
1.1.1 O CÁLCIO	4
1.1.2 CÁLCIO COMO MENSAGEIRO	8
1.1.3 O CÁLCIO EXTRACELULAR.....	9
1.1.4 REGULAÇÃO DO BALANÇO DE FOSFATOS.....	12
1.1.5 O OSSO	14
1.1.6 GLÂNDULAS PARATIROIDEIAS E PARATORMONA	17
1.1.7 VITAMINA D	18
1.1.8 INTESTINO	19
1.1.9 RIM	21
1.2 MÉTODOS DE MEDIDA	25
1.3 CONCEITO DE REGULAÇÃO E DE SISTEMA.....	27
1.4 OS QUADROS CLÍNICOS: CRITÉRIOS GENÉRICOS	31
1.4.1 HIPERCALCÉMIAS	31
1.4.1.1 <i>Hiperparatiroidismo primário</i>	31
1.4.1.2 <i>Hipercalcémia hipocalciúrica familiar</i>	32
1.4.1.3 <i>Toxicidade pelo lítio</i>	32
1.4.1.4 <i>Hipercalcémia tumoral</i>	32
1.4.1.5 <i>Doença de Jansen</i>	33
1.4.1.6 <i>Hipercalcémias dependentes da vitamina D</i>	33
1.4.1.7 <i>Outras</i>	34
1.4.2 HIPOCALCÉMIAS.....	34
1.4.2.1 <i>Hipoparatiroidismo</i>	34
1.4.2.2 <i>Pseudohipoparatiroidismo</i>	34
1.4.2.3 <i>Alterações do metabolismo da vitamina D</i>	35
1.4.2.4 <i>Hipocalcémia autossómica dominante</i>	36
1.5 OBJECTIVOS DA TESE	38
CAPÍTULO II - MATERIAL E MÉTODOS	39
2.1 CONSTRUÇÃO DO MODELO	41
2.2 O MODELO MATEMÁTICO	47
2.3 ESTIMATIVA DA TAXA DE DEGRADAÇÃO DA PTH.....	53

CAPÍTULO III – RESULTADOS	57
3.1 SIMULAÇÕES.....	59
3.1.1 EXPERIÊNCIAS AGUDAS	62
3.1.1.1 <i>Hipoparatiroidismo cirúrgico</i>	62
3.1.1.2 <i>Avaliação de excreção urinária de cálcio</i>	64
3.1.1.3 <i>Controlo Experimental das Calcémias</i>	66
3.1.1.4 <i>Infusões de cálcio</i>	68
3.1.1.5 <i>Infusões de Cálcio em indivíduos Normais e em Doentes Com</i> <i>Hipercalcémia Hipocalciúrica Familiar</i>	69
3.1.1.6 <i>Relação entre calcémia e calciúria</i>	70
3.1.2 FISIOPATOLOGIA DAS DOENÇAS DA HOMEOSTASE DO CÁLCIO	73
3.1.2.1 <i>INSUFICIÊNCIA RENAL</i>	83
3.1.3 RESPOSTA A INFUSÕES CRÓNICAS DE CÁLCIO, PTH OU CALCITRIOL	86
3.2 ANÁLISE DE DADOS LABORATORIAIS OBTIDOS EM DOENTES DO SERVIÇO DE ENDOCRINOLOGIA DO IPO.....	89
3.3 ASSENTAMENTO DO MODELO MATEMÁTICO AOS VALORES LABORATORIAIS.....	107
CAPÍTULO IV- DISCUSSÃO	111
4.1 IMPORTÂNCIA CLÍNICA DA ESCOLHA DO MODELO DE REGULAÇÃO DO CÁLCIO.....	113
4.1.1 O OSSO	115
4.1.2 MASSA SECRETORA DAS CÉLULAS PARATIROIDEIAS.....	116
4.2 TIPO DE MODELO	117
4.3 ANÁLISE DE UMA POPULAÇÃO DE DOENTES	122
4.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	125
ANEXO I – FACTORES DE CONVERSÃO UTILIZADOS	129
ANEXO II – ABREVIATURAS UTILIZADAS.....	131
ANEXO III – VERSÃO INFORMÁTICA DO MODELO MATEMÁTICO	135
ANEXO IV - VALORES DE CONTROLO DAS VARIÁVEIS E PARÂMETROS NO ESTADO DE REFERÊNCIA	141
ANEXO V – VALORES DAS VARIÁVEIS E DOS PARÂMETROS UTILIZADOS NO ESTADO DE REFERÊNCIA DAS SIMULAÇÕES.....	143
BIBLIOGRAFIA	145

PREFÁCIO

A tese aqui apresentada é o resultado de um projecto iniciado há vários anos e começado quase por acaso.

Há cerca de 5 anos, e a propósito de um trabalho sobre respostas hormonais e neurovegetativas a emoções, foram levantadas dúvidas sobre a qualidade e interpretação dos registos de um dos aparelhos utilizados. Pedimos a colaboração do Professor Doutor Hugo Gil Ferreira que não só nos iniciou nos rudimentos do processamento de sinais como foi responsável por tudo o que a partir daí adveio.

Na Medicina lidamos diariamente com números: determinações analíticas, testes de estimulação ou inibição, ... Por vezes, os números estão escondidos tal como nos algoritmos utilizados nos aparelhos de tomografia computadorizada ou na ressonância magnética. Ainda mais recentemente somos forçados a utilizar números para justificar as nossas escolhas na utilização de exames complementares de diagnóstico ou de terapêutica (é a “Evidence-based medicine” aplicada ao nosso doente ou aos cuidados de saúde em geral). Ciclos de regulação fisiológica com cada vez mais elementos são introduzidos para justificar as doenças e as respectivas terapêuticas. Árvores de decisão são o resultado de consensos estabelecidos por “experts” e apresentados para aplicação em cada vez mais áreas da Medicina.

No outro lado está o Médico que sujeito a toda a informação tem de tomar decisões práticas que como se pode demonstrar não podem, por impossibilidade natural, ser baseadas apenas na sua intuição.

O trabalho aqui apresentado, que pode ser transposto para outras áreas da Medicina, procurou ser um exemplo do que até aqui se disse. A partir de uma observação disponível – a calcemia nos seres humanos mantém-se entre limites relativamente estreitos (sinal de existência de uma regulação) – procedeu-se ao levantamento tanto quanto possível exaustivo dos dados publicados que justificariam aquela regulação. O passo seguinte foi o de seleccionar esta informação (procurou-se obter informação quantitativa fiável) e hierarquizá-la (alguns factores justificam a maior parte desta regulação enquanto muitos outros parecem ser responsáveis por pequenas variações ou ter importância em fases específicas da vida). Obteve-se assim, um modelo

com um número mínimo de elementos e com o qual se poderia explicar em grande parte este sistema fisiológico. Aferir a consistência deste modelo foi o passo seguinte: a complexidade deste modelo “mínimo” não permitia a utilização de simples raciocínios ou da intuição. Criou-se então um modelo matemático – no fundo uma “ferramenta” de raciocínio – que transpôs o modelo criado para um ambiente informático. A partir daí foi possível testá-lo, pô-lo à prova – recriando situações reais ou imaginando situações impossíveis. Muitos ajustes foram introduzidos até se obter a forma aqui apresentada. Os dados dos doentes seguidos no Serviço de Endocrinologia do Instituto Português de Oncologia de Francisco Gentil – Centro Regional de Oncologia de Lisboa, S.A. foram utilizados para ancorar, estabelecer limites, confirmar relações descritas no modelo.

Foi pois um longo processo o que decorreu até ao produto final aqui apresentado. Por não transparecer ao longo dele a influência de muitos intervenientes é importante para mim salientar a sua colaboração:

Os meus colegas do Serviço de Endocrinologia que disponibilizaram as informações relativas aos doentes e que criticaram diferentes fases deste trabalho (apresentadas em reuniões de Serviço);

O pessoal do Laboratório de Endocrinologia do Serviço de Endocrinologia do IPOFG-CROL, SA, em especial à Dra. Paula Font que me forneceu todos os resultados analíticos de PTH e vitaminas D;

A Associação Endocrinológica Oncológica que subsidiou os custos inerentes a algumas fases deste processo.

Na fase final de revisão, com introdução de críticas e comentários foram preciosas as colaborações da Professora Doutora Karin Gil Ferreira (que semanalmente me recebeu na sua casa e sempre me apoiou) e da Professora Doutora Teresa Moura.

Estes processos, quando não obrigatórios, justificam-se pelo prazer que deles se pode tirar. O balanço final é francamente positivo, graças também ao estímulo da minha família e dos amigos que sempre me incentivaram.

Os agradecimentos finais, que não cabem nunca em nenhuma frase, são:

- para o Professor Doutor Luís Sobrinho que me propôs, apoiou e incentivou em cada um dos momentos desta construção tal como sempre fez ao longo da minha carreira ;

- para o Professor Doutor Hugo Gil Ferreira que esteve presente desde o início e foi o responsável por todo o desenvolvimento deste trabalho. Ao longo de todos estes anos através das reuniões semanais em sua casa, o conceito de Universidade passou a ter um outro sentido: o da proximidade, o da discussão de áreas do conhecimento universal (de inúmeras coisas falámos), o aceitar e aprender com os erros. Este trabalho não representa mais do que uma marca de um projecto continuado. A força que sempre me deu (e em algumas ocasiões especialmente difíceis) permitiu chegar a este ponto;

- Aos meus filhos, Guilherme e Filipe, por me manterem firmemente ligado ao mundo deles (e que bom que é esse mundo mesmo quando é difícil conciliar com o meu mundo...)

Lisboa, 1 de Fevereiro de 2004

Parte do material apresentado nesta tese foi publicado no artigo “ A Minimal Mathematical Model of Calcium Homeostasis” do J Clin Endocrinol Metab 87:4330-4340, 2002.

Declaro que o desenvolvimento dos métodos e a produção dos resultados nele apresentados é da minha inteira responsabilidade ainda que sob a supervisão do Professor Doutor Luís Sobrinho e apoio técnico do Professor Doutor Hugo Gil Ferreira.

SUMÁRIO

PLANO DA TESE

As concentrações circulantes de cálcio são notavelmente constantes a despeito das variações diárias na absorção intestinal e na eliminação renal deste elemento.

A regulação da calcémia é um sistema complexo que compreende vários factores controladores (a calcémia, a fosforémia, as concentrações circulantes de paratormona (PTH) e calcitriol além de muitos outros factores como hormonas esteróides em geral, outros iões como o magnésio e outros factores hormonais) e vários órgãos alvo (glândulas paratiroideias, osso, rim e intestino). As respostas dos órgãos alvo também são muito variadas. No caso mais simples, a cristalização de sais de cálcio corresponde a uma mudança de fase em que participam moléculas orgânicas que a iniciam, aceleram ou inibem. Em geral a combinação de um factor controlador com o respectivo receptor de membrana (para polipeptídeos ou iões) ou intracelular (hormonas esteróides) é apenas o primeiro passo de uma cadeia bioquímica que introduz uma enorme amplificação na resposta. A esta variedade de mecanismos de resposta correspondem grandes diferenças nos tempos de resposta que podem ser de minutos a semanas.

É hoje possível “observar” (medir) com apreciável rigor nos líquidos biológicos (sangue, urina, fezes, etc.) os factores mais importantes do sistema de regulação da calcémia (cálcio, fósforo, paratormona e calcitriol) assim como administrar estes

factores em experiências agudas. Esta possibilidade reflecte — se na literatura neste campo que tem vindo a crescer.

O advento das técnicas da biologia molecular tem permitido a caracterização molecular de algumas das disfunções da homeostase do cálcio e é de esperar um diagnóstico fisiopatológico cada vez mais rigoroso dessas disfunções.

Com o avanço dos conhecimentos nesta área que não cessa de aumentar temos cada vez maiores capacidades para fazer diagnósticos e é cada vez mais difícil interpretar com rigor os correspondentes quadros metabólicos.

A análise ou síntese de sistemas complexos é a actividade mais nobre dos engenheiros que lhes permite desenhar pontes, diques, barcos, aviões ou automóveis. Com o aparecimento de computadores de médio ou grande porte foi — lhes possível utilizar descrições matemáticas não só para desenhar sistemas como ainda para interpretar eventuais falhas na sua operação. Essas descrições matemáticas consistem numa sequência de operações realizadas num computador segundo um “programa informático” que receberam a designação genérica de modelos, por analogia com as famosas leis (equações) da física que foram deduzidas a partir de um certo número de postulados e que permitem representar matematicamente processos físicos. As famosas leis de Newton são talvez os exemplos mais famosos de “modelos” de sistemas físicos. A introdução de modelos matemáticos em biologia e particularmente em medicina só se deu recentemente.

MÉTODOS

No trabalho que aqui se apresenta construiu - se um modelo simplificado da homeostase do cálcio destinado ao cálculo de variáveis observáveis (concentrações de cálcio, fósforo, PTH e calcitriol) de modo a poderem comparar-se valores calculados com valores observados. A escolha dos componentes do modelo foi determinada pela nossa experiência clínica e pela informação fisiopatológica e clínica publicada. Houve a preocupação de construir o modelo de forma modular de modo a ser possível a sua expansão sem grandes transformações na descrição matemática (e informática) já existente.

Na sua fase actual o modelo não pode ser usado como instrumento de diagnóstico. É antes uma ferramenta destinada a esclarecer “em princípio” mecanismos fisiopatológicos.

Usou - se o modelo para simular um certo número de observações publicadas e para exemplificar a sua eventual aplicação clínica na simulação de situações hipotéticas e na análise de possíveis mecanismos fisiopatológicos responsáveis por situações de hipo ou hipercalcémias.

Simultaneamente fez - se uma análise dos dados acumulados relativos a doentes vistos no Serviço de Endocrinologia do Instituto Português de Oncologia de Francisco Gentil - Centro Regional Oncológico de Lisboa, S.A.

CONCLUSÕES

Numa população de 894 doentes com patologias variadas do Instituto

Português de Oncologia de Lisboa os valores da calcémia tiveram uma distribuição normal unimodal com uma média de 9.56 mg/dl, e um erro padrão de 0.41 mg/dl. Estas observações sugerem que a calcémia está sujeita a regulação.

A partir dos resultados publicados em que o metabolismo do cálcio foi perturbado por infusões de cálcio, calcitriol ou PTH, de estudos bioquímicos e fisiológicos sobre os mecanismos de acção de factores controladores da calcémia e do estudo do comportamento de órgãos alvo (paratiroideias, intestino, osso e rim) foi possível construir um modelo matemático de parâmetros concentrados do sistema de regulação da calcémia. As expressões analíticas usadas foram baseadas na cinética enzimática de modo a que os seus parâmetros tivessem um significado físico ou fisiológico simples.

O modelo revelou apreciável robustez e flexibilidade. É estável quando não perturbado e transita entre estados estacionários quando perturbado. Na sua forma actual gera simulações que reproduzem satisfatoriamente um número apreciável de dados experimentais colhidos em doentes. Isto não significa que possa ser usado como instrumento de diagnóstico aplicável a doentes individuais. O desenho do modelo comporta a adição posterior de novas relações quando surgirem situações para as quais se revele insuficiente.

A utilização exaustiva do modelo permitiu explicitar aspectos do metabolismo do cálcio que ou não estão contidas na sua formulação actual - o aparecimento de hipertrofia ou de adenomas das paratiroideias e as alterações na estrutura

óssea , a participação de outros factores controladores – magnésio, ou estão insuficientemente descritas – alterações do metabolismo do fósforo nos hipoparatiroidismos.

A análise dos dados relativos aos doentes do Serviço de Endocrinologia do IPO permitiu o início da caracterização dos tipos de patologia que representam e de possíveis mecanismos fisiopatológicos subjacentes. Estas observações são o ponto de partida para análises futuras. São exemplos das relações encontradas: a distribuição dos doentes por dois grandes grupos conforme a calcémia é determinada pelas concentrações circulantes de PTH ou estas são determinadas pela calcémia; a distribuição sazonal das concentrações de Vit. D₂₅. no sangue; a correlação negativa entre estas e as concentrações de PTH no sangue. Também foi possível extrair a cinética do controlo da PTH sobre a síntese de calcitriol.

O estudo dos níveis circulantes de PTH no pós-operatório imediato de doentes paratireoidectomizados permitiu determinar as suas taxas de degradação metabólica.

O modelo permitiu simular as relações Ca/PTH no sangue, Ca/Fracção excretada da carga tubular, Ca/P no sangue para valores normais ou altos de Ca.

Foram feitas simulações de situações fisiopatológicas (em “doentes virtuais”): infusões crónicas de cálcio, PTH e calcitriol; alterações no comportamento de receptores. Estas simulações correspondem a experiências que não podem ser realizadas em humanos. São exemplos da utilização do modelo na

exploração de possíveis mecanismos fisiopatológicos através da observação de resultados quantitativos inacessíveis à intuição.

O modelo foi útil em duas fases do trabalho: Primeiro, durante a sua síntese implicou uma escolha criticamente selectiva de informação, sua análise quantitativa e processamento, uma explicitação rigorosa (analítica) das relações funcionais entre os controladores e as variáveis e da sua integração numa estrutura global; Segundo, a simulação de situações experimentais ou clínicas (dados do Serviço de Endocrinologia do IPO) em doentes obrigou a explicitar raciocínios fisiopatológicos habitualmente formulados em bases puramente intuitivas. Esta prática revelou comportamentos óbvios após as simulações – acção reduzida das infusões PTH (simulação de hiperparatiroidismos primários) enquanto não há inibição total da respectiva secreção, necessidade de aumento da massa secretora da paratireoideia nas insuficiências renais avançadas, etc.

A síntese e utilização do modelo não implicaram uma preparação matemática avançada e foram possíveis mercê da disponibilidade de “software” interactivo especificamente desenhado para a simulação de sistemas dinâmicos em que os programas se escrevem em inglês usando a simbologia simples da álgebra elementar.

A função nobre de modelos desta natureza é semelhante à dos modelos usados pelos físicos desde o século XVII: permitir explicações de carácter geral funcionando como uma ferramenta

intelectual para manipulação de conceitos e para a realização de “experiências pensadas” (“thought experiments”) respeitando certos princípios físicos (princípios de conservação) que estabelecem as fronteiras da realidade.

ABSTRACT

INTRODUCTION

Calcium blood levels are remarkably constant despite great variations in calcium daily intake, intestinal absorption and renal excretion.

The regulation of the calcium concentration in the blood is achieved by a complex system that includes several controller factors (mainly the serum levels of calcium, phosphorus, parathyroid hormone (PTH) and calcitriol but also of steroid hormones, ions such as magnesium and other hormonal factors) and several target organs (parathyroid glands, bone, kidney and intestine). The functional response to the controlling factors obeys a variety of kinetics. The precipitation of calcium salts is a simple phase transition in which organic molecules may provide nucleation centres or inhibit the process. The combination of a controller factor with its receptor located in the cell membrane (for peptides or ions) or in the nucleus (for steroid hormones) is only the first step of a biochemical chain that introduces a huge amplification in the response. To this great variability of response we have to add the times of response that vary from minutes to weeks.

It is possible to “observe” (measure) with great accuracy in biological fluids (blood, urine, faeces, etc.) the most important factors intervening in the calcium regulation (calcium, phosphorus, PTH and calcitriol). The response of the system to acute infusions of the controlling factors has also been studied.

Using molecular biology techniques it has been possible to characterize some calcium homeostasis dysfunctions and better physiopathological diagnosis are expected.

With the increasingly new knowledge in this area we have better capacity to diagnose but it is harder to explain correctly the underlying metabolic mechanisms.

The analysis or synthesis of complex systems is the noble activity of engineers that enables them to draw bridges, dams, boats, airplanes or cars. With the availability of medium-large frame computers it was possible to use mathematical descriptions not only to draw systems but also to explain flaws in its operations. These mathematical descriptions are generally known as *models* by analogy with the laws (equations) of physics that allow the mathematical description of physical processes. In practice it is not possible to find general solutions for the mathematical descriptions of complex systems but (numeric) computations for specific situations can be obtained with digital computers.

The introduction of mathematical models in biology and particularly in medicine is a recent event.

METHODS

In this thesis a simplified model of calcium homeostasis was built that enables the computation of observable variables (concentrations of calcium, phosphorus, PTH and calcitriol) and allows the comparison between the simulation values and observed values. The choice of the model's components was made according to our clinical experience and to the published clinical and physiopathological data. The model has a modular design that allows future expansions with minor alterations in its structure.

In its present form the model cannot be used for diagnosis. It is a tool designed to enlighten physiopathological processes.

To exemplify its possible clinical application in the simulation of hypothetical situations and in the analysis of possible mechanisms responsible for hypo or hypercalcemias the model was used to simulate a certain number of published observations.

An analysis of clinical and laboratory data from the Endocrinology Department of the Portuguese Cancer Institute (I.P.O.F.G.-C.R.O.L.,S.A.) is also presented.

CONCLUSIONS

In a population of 188 patients without an identifiable disease of the calcium metabolism at the Portuguese Cancer Institute the calcemia levels had a unimodal distribution with an average of

9.56 mg/dL and a S.E.M of 0.41 mg/dL. This observation confirms that serum calcium is regulated.

Using published data; in which calcium metabolism was disrupted by calcium, PTH or calcitriol infusions; from biochemical and physiological studies of the action of controller factors on the calcemia; in which the response of target organs (parathyroid glands, intestine, bone, kidney) was studied it was possible to build a mathematical model of concentrated parameters of the calcium homeostasis. Analytical expressions used were based on enzymatic kinetics.

The model is flexible and robust. It is stable when not disturbed and changes between steady states when disturbed. In its present form it provides simulations that reproduce closely a number of experimental clinical data. This does not mean that it can be used as a diagnostic tool for individual patients.

The exhaustive utilisation of the model revealed the need of future expansions to include aspects of the calcium metabolism not included in its present form –hypertrophy or adenomas of the parathyroid glands, bone structure changes, participation of other controller factors such as magnesium – or insufficiently described – phosphate metabolism in hypoparathyroidism.

The analysis of the data collected from the I.P.O.'s Endocrinology Department allowed the initial characterization of the different pathologies represented and of their possible physiopathological mechanisms. These observations are a starting point for future analysis. As

examples of the relations found were: the distribution of patients in two groups according to the dependency of calcium by PTH levels or PTH levels by calcium concentration; the seasonal distribution of the serum concentrations of D_{25} ; its negative correlation with PTH concentration. It was also possible to extract the kinetics of the control of the synthesis of calcitriol by PTH.

The analysis of immediate post-surgical levels of PTH in parathyroidectomized patients allowed the determination of its metabolic clearance.

The model also allowed the simulation of the relations between Ca/PTH in blood, serum Ca/Fraction of tubular load excreted and Ca/P in blood for normal and high values of calcium.

Simulations were made of pathological situations (in "virtual patients"): chronic infusions of calcium, PTH and calcitriol; changes in the characteristics of receptors. These simulations are not possible in real persons. They are an example of the use of this model in exploring possible mechanisms of disease through the observation of quantitative results not accessible to simple intuition.

This model was useful in two phases: Firstly, its construction required a careful choice of data, its quantitative analysis and processing, an analytical description of the relations between controller factors and variables and their integration in a global structure.

Secondly, the simulation of experimental or clinical (I.P.O.'s Endocrinology Department) data implied testing physiopathological explanations that previously were based on intuition.

The construction and utilisation of the model didn't demand an advanced mathematical preparation since user-friendly interactive software was used. This software was specifically designed for the simulation of dynamic systems. The programs are written in English using elementary algebra symbols.

The essential function of this type of models is identical to that of those used by physicists since the XVII century which describe quantitatively natural processes and are an intellectual tool for the manipulation of concepts and the performance of "thought experiments" based in certain physical principles (conservation principles) that are the frontiers of reality.

RESUMÉE

Les concentrations circulantes de calcium sont constantes même pendant des variations de l'absorption intestinale et de l'élimination rénale de cet élément.

La régulation de la calcémie est un système complexe qui comprend plusieurs éléments contrôleurs (la calcémie, la phosphorémie, les concentrations circulantes de l'hormone parathyroïdienne (PTH) e du calcitriol et d'autres comme les hormones stéroïdes ou des ions comme le magnésium) et plusieurs organes (glandes parathyroïdiennes, l'os, le rein et l'intestin). Les réponses de ces organes sont variées. Dans le cas plus simple, la cristallisation des sels de calcium correspond à un changement de phase dans lequel y

participent des molécules organiques que la débute, l'accélèrent ou l'inhibent.

Généralement la combinaison d'un élément contrôleur avec leur récepteur de membrane (pour les peptides ou les ions) ou intracellulaire (pour les hormones stéroïdes) n'est que le premier pas d'une chaîne biochimique qu'introduit une grande amplification de la réponse. A cette variété de réponses correspondent des grandes différences des temps de réponses qu'y vont des minutes à semaines.

Il est possible « observer » (mesurer) dans les fluides biologiques (sang, urine, fèces, etc.) les éléments plus importants du système de régulation de la calcémie (calcium, phosphate, PTH et le calcitriol) et les administrer en expériences aiguës. Cette possibilité est visible dans la littérature publiée dans ce domaine qui est en croissance permanente. L'avenir des techniques de biologie moléculaire a permis caractériser des nombreuses dysfonctions de la régulation de la calcémie et on attend un diagnostic physiopathologique de ces dysfonctions chaque fois plus rigoureux.

Les connaissances dans ce domaine s'agrandissent et on a de plus de capacités pour faire des diagnostics et il est chaque fois plus difficile les interpréter.

L'analyse ou synthèse de systèmes complexes est l'activité plus noble des ingénieurs qui les permet dessiner des ponts, bateaux, avions ou automobiles. Avec des ordinateurs de médium ou grand port il les est possible utiliser descriptions mathématiques pour dessiner les systèmes et interpréter des éventuelles fautes d'opération. Ces descriptions

mathématiques sont une séquence d'opérations réalisées dans un ordinateur selon « un programme informatique » qui ont reçu la désignation générique de modèles, pour analogie avec les équations de la physique qui ont été déduits d'un nombre de postulés et qu'ont permis représenter des processus physiques en équations mathématiques. Les fameuses équations de Newton sont peut-être les exemples plus connus des systèmes physiques.

L'introduction des modèles mathématiques en biologie et en particulier en médecine est un événement récent.

Dans ce travail, on a construit un modèle simplifié de l'homéostasie du calcium pour calculer les variables observables (concentrations de calcium, phosphate, PTH et calcitriol) pour les comparer. Les choix des composants ont été déterminés par notre expérience clinique et par l'information physiopathologique et clinique publiée. Le modèle a été construit de façon modulaire ce qui permet leur postérieure expansion sans des grandes altérations dans la description mathématique et informatique déjà existante.

Dans cette forme le modèle ne peut être utilisé comme un instrument de diagnostic. Il est un outil pour éclairer la physiopathologie. Le modèle a été utilisé pour simuler un certain nombre d'observations publiées et pour exemplifier leur possible utilisation clinique dans la simulation des hypothèses et de la physiopathologie des situations d'hypo ou hypercalcémie.

On a fait une analyse des éléments des procès cliniques des malades observées dans le Service d'Endocrinologie de l'IPOFG-CROL, SA.

Dans une population de 894 malades avec des différentes pathologies les valeurs de calcémie ont une distribution uni modale avec une Médiane de 9.56 mg/dL et une erreur standard de 0.41 mg/dL. Ces observations suggèrent que la calcémie soit sujette de régulation.

En utilisant des résultats de travaux publiés dans lesquels le métabolisme du calcium a été changé par des infusions de calcium, calcitriol ou PTH, des études biochimiques et physiologiques sur des mécanismes d'action des éléments contrôleurs de la calcémie et de l'étude du comportement des organes cible (parathyroïdes, intestin, rein, os), il a été possible de construire un modèle mathématique de paramètres concentrés du système de régulation de la calcémie. Les expressions analytiques utilisées ont été basées sur la cinétique enzymatique de façon à que les paramètres aient eu une signification physique ou biologique.

Le modèle est stable quand il n'est pas perturbé et transit entre états stationnaires quand il est sujet à des perturbations.

A ce moment il fait des simulations qui reproduisent de façon satisfaisant un nombre d'observations expérimentales.

La construction du modèle permet l'addition de nouvelles relations dans les cas où il est insuffisant.

L'utilisation exhaustive du modèle a permis expliciter des aspects du métabolisme du calcium qui y ne sont pas

compris – l'hyperplasie ou la formation des adénomes des parathyroïdes, les altérations de la structure des os, la participation d'autres éléments régulateurs (magnésium), ou sont insuffisamment décrites – les altérations du métabolisme des phosphates dans l'hypoparathyroidisme.

L'analyse de l'information des malades du Service d'Endocrinologie a permis caractériser les pathologies représentées et leurs possibles mécanismes physiopathologiques. Ces observations sont le point de départ pour les analyses futures. Sont des exemples des relations trouvées: la distribution des malades par deux groupes: ceux dans lequel la calcémie est déterminée par la PTH ou ceux dans lesquels la PTH est déterminée par la calcémie; la distribution saisonnière de la concentration de la vitamine D; la corrélation négative entre la vitamine D et la PTH.

On a eu la possibilité de déduire la cinétique de contrôle de la PTH sur la synthèse du calcitriol. L'étude des niveaux circulants de PTH sur des sujets parathyroïdectomisés a permis déduire leur taux de dégradation métabolique.

Le modèle a permis simuler les relations Ca/PTH dans le sang, Ca/fraction éliminée par le rein, Ca/P dans le sang pour des valeurs normales ou hautes de calcium.

On a fait des simulations de situations physiopathologiques (dans "malades virtuelles"): Infusions chroniques de calcium, PTH ou calcitriol; altérations des récepteurs.

Ces simulations ne peuvent pas être réalisées dans les humains. Sont des

exemples d'utilisation du modèle dans l'exploration des possibles mécanismes de la physiopathologie en observant des résultats quantitatifs inaccessibles à l'intuition.

Le modèle a été utile pendant deux étapes des travaux: La première, dans sa construction on a choisi l'information disponible, son analyse quantitative, l'explicitation rigoureuse (analytique) des relations fonctionnelles entre les contrôleurs et les variables et sa intégration dans une structure globale. La deuxième, la simulation de situations expérimentales ou cliniques (du Service d'Endocrinologie) a obligé d'explicitier des raisonnements physiopathologiques généralement formulés utilisant l'intuition.

Cette pratique a montré des comportements – action réduite des infusions de PTH (jusqu'à l'inhibition totale

de leur respective sécrétion), nécessité d'augmenter la masse sécréteuse de la parathyroïde dans les insuffisants rénales, etc.

La synthèse et utilisation du modèle n'ont pas besoin d'une formation avancée en mathématique et sont possibles grâce à un programme interactif qui a été conçu pour la simulation des systèmes dynamiques dans lesquels le programme se construit en anglais en utilisant la symbolique élémentaire de l'algèbre. La fonction noble de ces modèles est semblable à celles des physiques du XVII^e siècle: Permettre établir explications générales en fonctionnant comme un outil intellectuel pour manipuler des concepts et pour la réalisation d'expérimentes pensées en respectant certains principes de la physique (principe de la conservation) qu'établissent les frontières de la réalité.

CAPÍTULO I – INTRODUÇÃO GERAL

1.1 A CLÍNICA E A HOMEOSTASE DO CÁLCIO: FACTORES CONTROLADORES E ORGÃOS-ALVO

O cálcio do organismo distribui-se por vários compartimentos: o osso e dentes, o compartimento extracelular (CEC), o citoplasma do compartimento intracelular (CIC) e os organitos intracelulares são os principais.

As perturbações do seu metabolismo podem revelar – se:

- por desvios na sua distribuição entre esses compartimentos que se traduzem na subida ou descida da sua concentração no CEC e consequentes manifestações funcionais resultantes sobretudo de alterações nos processos de excitabilidade;

- por pequenos balanços¹ negativos ou positivos acumulados durante períodos longos, em um ou mais dos compartimentos do organismo que podem conduzir a uma desmineralização do osso ou a depósitos anormais no osso ou em tecidos moles (rim, córnea, tendões, etc.) com consequentes perturbações estruturais de que podem resultar insuficiência renal, cegueira ou propensão para fracturas.

São estas alterações funcionais ou morfológicas que o clínico observa. Dos movimentos do cálcio através das fronteiras de compartimentos, só as calciúrias são directa e facilmente observáveis.

O clínico tem acesso a determinações rigorosas das concentrações de cálcio e fósforo e de várias hormonas nos líquidos orgânicos que podem ser colhidos e a imagens dos depósitos de cálcio normais e patológicos. Todavia os dados da imagiologia (densitometria) são ainda semi – quantitativos (1), mas atendendo aos progressos noutras aplicações, sobretudo em cárdio – angiologia são de esperar avanços apreciáveis nesta área .

A informação que o clínico pode colher sobre as perturbações do metabolismo do cálcio são comparáveis a instantâneos fotográficos. São padrões num dado instante ou quanto muito uma sucessão descontínua

desses instantâneos. Faltam – lhe dados relativos não só aos conteúdos totais de cada compartimento mas também e sobretudo à velocidade com que se fazem as trocas.

Os isótopos radioactivos têm sido muito usados para fazer a caracterização dinâmica da homeostase do cálcio e das suas perturbações. É uma estratégia que tem limitações práticas que não se restringem aos perigos da manipulação de radioactividade. Pode demonstrar – se que para se caracterizar dinamicamente um sistema de N compartimentos será necessário “marcar” e observar todos os compartimentos (2) algo que não é possível fazer de maneira não invasiva.

A estratégia que no passado tem sido adoptada consiste em complementar experiências com isótopos muito simplificadas com a utilização de modelos matemáticos.

Muitos dos dados colhidos ao longo das últimas três décadas sobre os aspectos dinâmicos da homeostase do cálcio que usaremos mais adiante foram obtidos com esta estratégia. É graças a estes dados juntamente com a capacidade de medir concentrações iónicas e hormonais com rigor apreciável que podemos começar a quantificar os nossos conhecimentos nesta área.

1.1.1 O CÁLCIO

Um indivíduo saudável de 70 Kg de peso tem cerca de 1.3 Kg (32.5 moles)² de cálcio dos quais 99% sob a forma de hidroxiapatite cristalina nos osso e dentes (3).

No homem a massa óssea aumenta continuamente até cerca dos 27 anos, estabiliza nos 20 anos seguintes e cai daí em diante. Na mulher a evolução é qualitativamente semelhante. O período de crescimento é semelhante, o período estacionário é de cerca de 13 anos e tal como no homem segue – se – lhe um período de desmineralização até à morte (4). Esta evolução não é totalmente sobreponível em todas as pessoas. Está sujeita a

¹ A palavra *balanço* é usada no sentido dos anglo – saxónicos e que é idêntico ao dos contabilistas: o que entra menos o que sai.

² Os factores de conversão entre as unidades do Sistema Internacional e do Sistema Convencional de Medidas utilizados neste trabalho encontram-se no Anexo I.

factores inerentes à história natural do ser humano, como é a evolução ao longo da vida das taxas de secreção de esteróides sexuais, assim como a factores dietéticos, actividade física, doenças intercorrentes, etc.

A perda de cálcio a partir de certa idade é mais pronunciada na mulher e coincide com a menopausa. Esta observação sugere uma participação das hormonas sexuais no controlo dos balanços de cálcio.

Só 4 a 6 g (0.1 a 0.15 moles) do cálcio total é permutável, miscível ou móvel e este está quase todo no osso (cerca de 95%) (5). Um por cento (12 g – 0.3 moles) do cálcio total é intracelular onde se encontra incorporado nas membranas celulares, combinado com proteínas e pequenos aniões e sobretudo em depósitos em organitos intracelulares de onde é normalmente mobilizado por segundos mensageiros (ver adiante) quando ocorrem processos designados genericamente por *acoplamento excitação/secreção* (glândulas) ou *excitação/contracção* (fibras musculares). Como a concentração intracelular de cálcio livre em repouso é provavelmente inferior a 4 µg/L (0.1 µM) a quantidade total de cálcio livre nos cerca de 28 litros do CIC não ultrapassará 112 µg (2.8 µmoles) e sendo embora de grande importância funcional, pode ser ignorada como compartimento para efeito de trocas.

Dos 5 litros de sangue apenas 3 (correspondentes ao plasma) são acessíveis ao cálcio. A quantidade deste ião nas células do sangue é desprezível. O maior compartimento intracelular circulante corresponde aos eritrócitos e como estes não têm organitos não contêm cálcio doseável (6).

Por cada litro de plasma cerca de 60 mg de cálcio (1.5 mmoles) podem difundir através dos capilares, dos quais 48 mg (1.2 mmoles) correspondem a cálcio iónico (ou livre) e 12 mg (0.3 mmoles) a cálcio ligado a pequenas moléculas (carbonato, bicarbonato, fosfatos, aniões orgânicos, etc.). O efeito de uns milivolts de diferença de potencial através da barreira capilar sobre a distribuição do cálcio iónico pode ser ignorado. Ligados a proteínas estão 36 mg (0.9 mmoles) (5). Os métodos laboratoriais mais correntes (baseados na absorção atómica) medem o cálcio total no plasma com um valor médio de 9.6 mg/dL (2.4 mM). É de prever que a curto prazo os métodos electrométricos de determinação de cálcio livre se generalizem.

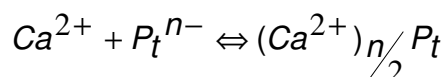
Dada a enorme superfície de troca do território capilar e a sua grande permeabilidade, o cálcio difusível do plasma está em equilíbrio com o cálcio

difusível do espaço extracelular e a concentração de cálcio neste é continuamente determinada sobretudo pelas trocas com o osso. Os fluxos unidireccionais³ *plasma* ↔ *osso* são cerca de 3.6g/dia (90 mmoles/dia) (7). Se considerarmos que o CEC contem cerca de 960 mg (24 mmoles) de cálcio total este espaço troca cerca de 3.8 vezes por dia (quase uma vez de 6 em 6 horas) o seu cálcio com o osso.

A ingestão média de cálcio é de 800 mg/dia (20 mmoles/dia) (5). Se como consequência de uma doença crónica (hiperparatiroidismo primário) se tiverem perdido 10% (128 g - 3.2 moles) do cálcio ósseo, mesmo reduzindo as perdas pelas fezes e pela urina a zero a esta taxa serão necessários pelo menos 160 dias para repor as perdas.

Ou seja, os valores das taxas de troca através das fronteiras dos compartimentos do organismo explicam porque razão pode haver modificações tão rápidas da calcémia e é tão difícil mineralizar ou desmineralizar rapidamente o osso.

O cálcio total do plasma conterà portanto uma fracção (difusível) cuja concentração é determinada pela concentração do cálcio difusível no espaço intersticial (cerca de 11 litros) e outra, combinada com proteínas, em princípio calculável a partir da reacção:



Na prática quando se mede o cálcio iónico (ou por diferença o combinado) em amostras do mesmo plasma ($[P_t]$ constante] em que se fazem sobrecargas com cálcio verifica-se que a fracção do cálcio combinado é proporcional à concentração de cálcio livre o que sugere que se pode descrever a reacção por uma equação de Michaelis-Menten:

³ Convém distinguir *fluxo unidireccional* de *fluxo líquido* ("net" em inglês). No presente contexto, *fluxo líquido* designa a quantidade de cálcio que atravessa uma membrana por unidade de tempo. Podemos conceber que este fluxo é a diferença entre dois outros fluxos (unidireccionais) que atravessam a membrana em sentido contrário. Este conceito abstracto de fluxo tem uma correspondência nos fluxos de isótopos radioactivos de um mesmo elemento. Podemos conceber e realizar uma experiência em que se medem os movimentos de ⁴⁵Ca do compartimento (1) para o compartimento (2) – $J_{1,2}$ e de ⁴⁷Ca em sentido contrário – $J_{2,1}$. Em condições estacionárias o fluxo líquido de (1) para (2) é igual a $J_{1,2} - J_{2,1}$.

$$[Ca_p] = [P_t] \times \frac{[Ca^{2+}]}{([Ca^{2+}] + K_{Ca})}$$

em que :

$[Ca_p]$ é a concentração de cálcio ligado às proteínas

$[P_t]$ é a concentração total (aparente⁴) de proteínas

$[Ca^{2+}]$ é a concentração de cálcio iónico

K_{Ca} é a afinidade aparente das proteínas

Como em circunstâncias normais só 10 – 15 % da capacidade de combinação das proteínas (na prática, da albumina) estão ocupados a afinidade é baixa ($K_{Ca} \gg [Ca^{2+}]$)

$$[Ca_p] \approx \frac{[P_t] \cdot [Ca^{2+}]}{K_{Ca}}$$

Ou seja a concentração de cálcio ligado às proteínas é proporcional à concentração de cálcio iónico e também à concentração de proteínas.

A partir dos valores normais que referimos acima obtemos:

$$\frac{[P_t]}{K_{Ca}} = 0.9/1.2 = 0.75$$

Portanto:

$$\begin{aligned} [Ca_T] &= [Ca^{2+}] + [Ca_{CD}] + [Ca_p] \\ &= [Ca^{2+}] + [Ca_{CD}] + \frac{[P_t]}{K_{Ca}} \cdot [Ca^{2+}] \\ &= [Ca^{2+}] \cdot \left(1 + \frac{[P_t]}{K_{Ca}}\right) + [Ca_{CD}] \end{aligned}$$

ou :

⁴ o termo *aparente* é aqui usado para descrever os valores médios ponderados da mistura de proteínas no plasma em que domina a albumina.

$$\text{Fracção Livre} = [\text{Ca}^{2+}] / [\text{Ca}_T] = [\text{Ca}^{2+}] / ([\text{Ca}^{2+}] \cdot (1 + \frac{[P_t]}{K_{Ca}}) + [\text{Ca}_{CD}])$$

em que :

$[\text{Ca}_T]$ é a concentração total de cálcio

$[\text{Ca}_{CD}]$ é a concentração de cálcio combinado difusível

Se para concentrações normais de proteínas é razoável admitir que 50% do cálcio está ionizado para variações apreciáveis da proteinémia (e portanto de $\frac{[P_t]}{K_{Ca}}$) será necessário introduzir correcções.

1.1.2 CÁLCIO COMO MENSAGEIRO⁵

A estrutura do cálcio permite – lhe formar complexos com números de coordenação muito variados o que implica que quer os ângulos entre as ligações quer o seu comprimento podem variar apreciavelmente (8). Estas características juntamente com o seu pequeno diâmetro permitem-lhe fixar-se a uma grande variedade de locais carregados negativamente, quer façam parte de pequenos aniões inorgânicos (carbonato, bicarbonato, fosfato, etc.) ou orgânicos (aminoácidos, ácidos pirúvico e láctico, etc.) ou de macromoléculas (proteínas).

Deste comportamento químico resultam duas consequências: a fracção maioritária do cálcio do organismo está sob a forma combinada; o ião cálcio, pode activar ou inibir moléculas (proteínas) com actividade catalítica e fá – lo a muito baixas concentrações. Esta acção pode observar – se no CEC – por exemplo na coagulação - mas é sobretudo importante no CIC.

⁵ O conceito de *mensageiro* foi introduzido para designar pequenas moléculas orgânicas (acetilcolina, aminas simpático-miméticas) que libertadas pela membrana pré – sináptica durante a transmissão sináptica, modificam a permeabilidade da membrana pós – sináptica e por esse mecanismo estimulam ou inibem a célula pós – sináptica. O conceito foi depois generalizado aos factores químicos capazes de modificar o estado funcional das células. Em muitos processos os mensageiros induzem a síntese intracelular de moléculas – AMP ou GMP cíclicos, ou libertação de iões – cálcio – , que por sua vez são activadores ou inibidores de moléculas catalíticas e passam a ser designados por segundos mensageiros.

A lista de processos controlados pelo cálcio intracelular é muito extensa (9). São particularmente conhecidos a contracção muscular (10), a neurosecreção (11), a secreção epitelial e hormonal (12), a activação de canais iónicos (13), a diferenciação, a proliferação (14) e a morte celular (15). O aparecimento de tampões de cálcio (EGTA e EDTA) e de sondas fluorescentes para cálcio (equarina e fura (16)) veio mostrar que a afinidade⁶ destes processos para o cálcio é na ordem dos nanomoles. Não é surpreendente que a utilização de sondas fluorescentes intracelulares tenha demonstrado que a concentração intracelular de cálcio livre é mantida a níveis muito baixos ($< 40 \mu\text{g}$ ou $< 1 \mu\text{M}$) e que se tenha identificado uma potente bomba de cálcio em todos os sistemas celulares em que foi estudada (17). A concentração intracelular de cálcio é determinada, para processos muito rápidos pelas trocas com reservatórios intracelulares (retículos sarco e endo – plasmáticos) e pelo balanço entre os influxos de cálcio através de canais específicos, utilizando o gradiente de cálcio (a concentração do ião é milhares de vezes superior no CEC) e a taxa de bombagem.

As repercussões das variações rápidas nas trocas com o meio exterior sobre o compartimento intracelular são necessariamente mediadas por flutuações na calcémia e estas são fortemente atenuadas pelas trocas rápidas com osso (minutos a horas).

1.1.3 O CÁLCIO EXTRACELULAR

É fácil mostrar que a velocidade a que é possível mudar a concentração de um componente num compartimento é função directa do cociente entre a taxa das suas trocas através das suas fronteiras e o seu conteúdo total. Já vimos que as trocas entre o CEC e o osso são muito intensas. Se incluirmos as trocas com o ambiente o cálcio do CEC é recirculado mais de 5 vezes por dia. Se a mobilização de cálcio a partir do osso parasse subitamente, 99% deste ião desapareceria do CEC em pouco mais do que uma hora. Este facto permite

⁶ *Afinidade* é a concentração de um activador ou inibidor para o qual a velocidade ou taxa de um processo corresponde a 50% da sua gama dinâmica. *Gama dinâmica* é a diferença entre o valor máximo e o valor mínimo da actividade de um processo.

compreender as dramáticas variações da calcémia no pós - operatório de doentes com hiperparatiroidismo paratiroidectomizados.

A despeito do valor destas taxas a calcémia nos indivíduos normais é 9.6 ± 0.8 mg/dL (2.4 ± 0.2 mM) (88) o que indica que está sujeita a mecanismos de regulação, razão porque é frequentemente usada a expressão “homeostase do cálcio”.

Convém distinguir dois mecanismos responsáveis pela atenuação das variações da concentração de um componente de um compartimento do organismo (18). Vamos escolher como exemplo ilustrativo a regulação da concentração hidrogeniónica no sangue.

A concentração hidrogeniónica no sangue varia muito pouco durante as sobrecargas agudas moderadas de ácido ou de base porque existem em circulação moléculas – tampões - (bicarbonato, fosfato, proteínas, etc.) capazes de fixar ou libertar protões na presença dessas sobrecargas. O *efeito tampão* é de natureza puramente química, não depende da operação de um mecanismo fisiológico – (excreção de protões ou síntese de bases, por exemplo) e tem uma eficácia que depende apenas da quantidade de tampão dissolvida no soro e do seu pK_a ⁷ e do pH do soro⁸.

A concentração hidrogeniónica no sangue também é determinada pelos balanços das trocas com o exterior e com o CIC devidos a mecanismos fisiológicos.

O osso é simultaneamente um sistema tampão – por intermédio da precipitação/dissolução de hidroxiapatite – e um componente da regulação fisiológica da calcémia em que participam células sob controlo hormonal.

O número de factores reguladores do metabolismo do cálcio tem vindo a crescer regularmente.

Simple modificações da postura ou a permanência em situações em que o peso (ou seja as forças a que o esqueleto está sujeito) foi alterado podem induzir dramáticas modificações nos balanços externo e interno do cálcio (19,20)⁹.

⁷ O pK_a é o pH a que 50% das moléculas de tampão estão dissociadas.

⁸ É fácil demonstrar que um tampão tem sua eficácia máxima (por mole de tampão) quando se encontra dissolvido numa solução cujo pH é igual ao seu pK_a .

⁹ O *balanço externo* refere – se às trocas com o ambiente (absorção intestinal – calciúria) ao passo que o *balanço interno* se refere às trocas com o osso (mobilização – depósito).

As acções da paratormona e do calcitriol estão razoavelmente documentadas e explicadas. Dados clínicos sugerem que a insulina (21) a somatotrofina (22), as hormonas esteróides sexuais (4) e do cortex supra-renal (23), as hormonas da tiroideia (24), a prolactina (25), os péptidos relacionados com a paratormona (26) e citocinas (4) também influenciam o metabolismo do cálcio. O mesmo se passa em relação a certas substâncias usadas em medicina como os diuréticos (27), vitamina A (28), anti-ácidos (29). A maior parte destas acções é inferida a partir da epidemiologia clínica.

Deste conjunto extenso de factores destacam – se pela sua importância fisiológica a paratormona e o calcitriol que são também os factores em que o controlo da secreção e as acções são melhor conhecidos.

1.1.4 REGULAÇÃO DO BALANÇO DE FOSFATOS

O fosfato do organismo corresponde a 1% do peso corporal (700 gramas ou 22 moles num indivíduo de 70 Kg) dos quais 80 % estão no osso e 0.1 % no CEC dos quais 1/3 (0.033 %) é inorgânico e 10/33 (0.03 %) é ultrafiltrável. O restante fosfato do CEC está integrado nos fosfolípidos circulantes (30). A concentração de fosfato no CEC é razoavelmente estável (3.1 a 4.6 mg/dL ou 0.97 a 1.45 mM) (88) a despeito da sua participação num grande número de processos metabólicos (31). O fosfato é um componente estrutural importante do osso, de grande número de macromoléculas, dos fosfolípidos circulantes e das membranas biológicas, de pequenas moléculas (fosfatos de adenosina, guanosina e de ácido glicérico). Desempenha um papel importante em processos bioenergéticos, em especial nos processos de fosforilação / desfosforilação ligados à síntese e degradação de macromoléculas, à fosforilação oxidativa, à glicólise e à gluconeogénese, ao ciclo das pentoses, ao transporte activo biológico, aos fenómenos da motilidade, etc. É o tampão mais importante da urina em condições normais (32).

A absorção intestinal de fosfatos é quase integralmente determinada pela ingestão. Para uma gama extensa de ingestões (320 a 3200 mg/dia ou 10 a 100 mmoles/dia)¹⁰ (30) o intestino absorve 65 a 70 % do fósforo ingerido. Uma pequena fracção depende do calcitriol. As trocas entre o CEC e o exterior são de cerca de 920 mg/dia (29 mmoles/dia) e com o osso são 254 mg/dia (8 mmoles/dia). As trocas com o compartimento celular são determinadas pela actividade metabólica e esta é condicionada por situações funcionais distintas conforme os órgãos (síntese no fígado, transporte no rim, trabalho mecânico no músculo).

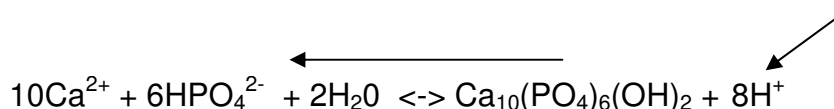
A eliminação renal de fosfatos segue muito de perto e com um atraso de horas a absorção intestinal por um mecanismo ainda desconhecido (33). O controlo da fosfatúria exerce – se adaptando a absorção tubular de fosfatos cuja capacidade máxima varia inversamente com o aporte intestinal. A fosfatúria é parcialmente controlada pela paratormona circulante (33).

¹⁰ Os valores das trocas correspondem a movimentos unidireccionais num indivíduo de 70 kg.

A paratormona inibe a reabsorção do fosfato predominantemente no túbulo proximal. Em administração aguda provoca um aumento quase imediato da fosfatúria (10 minutos) – cerca de 5 vezes o valor basal. No entanto este mecanismo de regulação pode ser adaptado (ampliado ou inibido) por uma dieta restritiva ou excessiva em fosfato (34).

O calcitriol aumenta a reabsorção de fosfato no túbulo renal proximal, mas este efeito só está descrito para doses supra - fisiológicas desta hormona (35).

A precipitação/solubilização de fosfato de cálcio no osso é um processo complexo ainda não totalmente esclarecido determinado por factores muito variados. Como a remodelação óssea é contínua, a hidroxiapatite não está em verdadeiro equilíbrio com os iões cálcio e fosfato no CEC. Há duas vias de troca: através da superfície de contacto directo entre trabéculas ósseas e espaço extracelular e nos locais sob controlo das células ósseas. O processo de formação de cristais de hidroxiapatite óssea não é idêntico ao do crescimento de cristais em solução. A síntese de matriz pelos elementos celulares (osteoblastos) ora origina centros de nucleação que baixam a energia de activação da cristalização ou camadas que inibem a progressão da mineralização. Deste modo o crescimento cristalino não se faz por simples depósito em todas as direcções mas de maneira orientada originando – se a complexa arquitectura tridimensional do tecido ósseo diferente conforme o local do esqueleto em que ocorre (36). A concentração hidrogeniónica local é um factor determinante como se pode deduzir da reacção global :



Uma injeção local de protões (pela bomba de protões dos osteoclastos) forçará a reacção a deslocar – se para a esquerda no sentido da solubilização de cálcio¹¹.

¹¹ O composto $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ é a *hidroxiapatite*. A seta horizontal indica que a reacção se deslocou para a esquerda como consequência da injeção de protões (seta oblíqua). Notar que a relação Ca/P em termos molares é 5/3.

1.1.5 O OSSO

O sistema ósseo é constituído por um tecido mineralizado semelhante aos compósitos produzidos industrialmente em que existe uma mistura íntima de materiais distintos. Quando consistem em fibras incorporadas numa massa mineral cristalina ou semi – cristalina semelhante às rochas, como é o caso do osso, têm uma dureza devida às fortes ligações iónicas da componente mineral e são dificilmente fracturáveis porque as fracturas implicam a rotura das ligações covalentes das fibras.

A parte mineral do osso é constituída por cristais de hidroxiapatite (37) enquanto que o componente fibroso é essencialmente colagénio tipo I que constitui cerca de 90% da componente orgânica (a matriz).

O elemento morfológico da componente mineralizada é a *lamela* com uma espessura de cerca de 3.2 μm no osso normal. As lamelas dispõem-se em camadas à maneira do contraplacado, organizando – se em estruturas alveolares (osso esponjoso) ou tubulares (osso cortical e canais Haversianos). (38). O osso também contém outros componentes: vasos, nervos, etc. de que não nos ocuparemos.

Do ponto de vista deste trabalho interessa reter que como consequência desta estrutura, a superfície de trocas entre o osso e o CEC é muito extensa (cerca de 10 m^2) e a presença de componentes orgânicas (fibras, e outras macromoléculas) implica uma associação muito íntima entre células – responsáveis pela síntese e degradação de tecido ósseo, e material calcificado.

É geralmente aceite que a superfície lamelar contígua ao CEC está coberta por células de vários tipos e em diferentes fases do seu desenvolvimento. A composição desta população heterogénea de células varia ao longo da vida do indivíduo, e no mesmo indivíduo de local para local de acordo com a fase de mineralização em que se encontram. Na pessoa adulta e em estado estacionário os principais elementos celulares diferenciados são os osteoblastos, os osteoclastos e osteocitos ou células de revestimento da superfície quiescente que correspondem à fase terminal da diferenciação dos osteoblastos.

Osteoblastos em cultura (39) exibem uma enorme variedade de receptores e são capazes de sintetizar um número apreciável de proteínas além do colagénio (Osteonectina, osteopontina, sialoproteína, proteoglicanos, trombospondina, osteocalcina, proteína-gla da matriz que impede a mineralização, etc.). A síntese destas proteínas está sujeita ao controlo (positivo ou negativo) por factores específicos (calcitriol, glucocorticoides, ácido retinoico, PTH, estrógenos, interleucinas, etc.). Estas observações sugerem que os osteoblastos desempenham um papel central na formação de lamelas mas devem ser vistas como indicando apenas as suas potencialidades funcionais.

Desde há muito que se sabe que a paratormona promove a reabsorção de osso. Os estudos *in vitro* vieram mostrar que a acção de factores que promovem a reabsorção de osso o fazem actuando sobre os osteoblastos que por sua vez induzem a formação e/ou activação de osteoclastos estes directamente responsáveis pela reabsorção (40). Os osteoblastos em conjunto com as células do estroma estão envolvidos em todos os processos de desenvolvimento dos osteoclastos (diferenciação, fusão celular e posterior activação) através da produção de RANKL (“receptor activator of nuclear factor (NF)-kB ligand”) e M-CSF (“macrophage – colony stimulating factor”). Uma terceira molécula chave nesta interacção é a OPG (osteoprotegerina) que é um receptor solúvel para o RANKL, que bloqueia a interacção RANK-RANKL e consequentemente a activação dos osteoclastos (41).

A acção osteolítica dos osteoclastos já está estudada em grande pormenor (42) e envolve uma sequência de processos: a abertura de uma lacuna na *superfície quiescente* (ver abaixo) revestida por osteócitos que passa a ser ocupada por um osteoclasto, que adere à trabécula óssea por intermédio de moléculas adesivas; a criação de uma bolsa hermética para onde são segregados activamente prótons livres e proteinases de vários tipos que promovem a dissolução da matriz local. As lacunas assim criadas vão sendo povoadas por osteoblastos que promovem a formação de novas lamelas.

O resultado desta acção é, de acordo com o local onde ocorre, ou a criação de lacunas superficiais que são o ponto de partida para a remodelação das trabéculas ósseas ou então a criação de canais em torno dos quais se constituem sistemas haversianos habitados por vasos. Os osteócitos, de

funções menos bem conhecidas, revestem a “superfície quiescente” assim chamada por não exhibir os sinais de remodelação óssea acima descritos (5).

Do ponto de vista do metabolismo do cálcio interessa reter que na interface líquido extracelular – osso há provavelmente dois tipos de trocas.

Através da superfície quiescente (toda?) as trocas são reversíveis, contínuas, parcialmente determinadas por processos físico - químicos simples e ultramicroscópicas. Processam-se a taxas baixas por unidade de superfície mas numa extensão que corresponde a mais de 80% da área de trocas e em ciclos de horas. A fisiologia dos osteócitos que cobrem uns 5% da superfície quiescente, é mal conhecida.

As trocas na superfície quiescente não se restringem aos processos de *cristalização* ↔ *solubilização* porque há uma associação íntima entre a mineralização – desmineralização e a reciclagem da matriz.

Nas zonas de remodelação as trocas estão sob estrito controlo celular, fazem –se à escala microscópica, são irreversíveis, intermitentes e processam-se a taxas elevadas mas numa área restrita (10 a 20%) e em ciclos de meses.

Porque as taxas das trocas de cálcio entre o CEC e o osso são relativamente elevadas quando comparadas com o conteúdo total em cálcio do CEC, o osso é o órgão mais importante na regulação aguda da calcémia.

A regulação da calcémia implica a existência de um certo número de componentes funcionais: (a) um processo de *comparação* da calcémia instantânea com o seu *valor de referência*¹²; no caso de haver diferença o (b) desencadeamento de uma *resposta* – por exemplo a produção de uma hormona – cuja *acção* sobre um ou mais (c) *órgãos efectores* promoverá a correcção do desvio.

Nesta cadeia de processos o osso é um órgão efector porque pode injectar ou remover cálcio do CEC sob controlo de vários controladores: PTH, calcitriol, Ca^{2+} sérico, etc.

A massa óssea, a sua distribuição macroscópica e microscópica são seguramente variáveis controladas. A análise da morfologia óssea revelou que a despeito da grande diversidade das trocas de local para local é possível

¹² O *valor de referência* é um conceito abstracto mas útil. Se verificarmos que a concentração sérica de Ca^{2+} normal – *ponto operacional* é de 1.2mM isso significa que quando ela se desvia deste valor o sistema regulador actua injectando ou removendo cálcio do CEC. 1.2 mM será o valor de referência.

verificar que se trata de variantes de uma organização hierarquizada que se repete (43, 44). Apesar da contínua actividade de remodelação, a evolução da massa óssea ao longo da vida exhibe uma notável regularidade e os clínicos sabem que no adulto saudável de meia idade radiografias repetidas ao mesmo segmento, muitas vezes com anos de intervalo são idênticas. Isso significa que processos de remanejamento ósseo ocorrendo simultaneamente em pontos distantes do esqueleto estão sujeitos a um controlo integrado. Modelos matemáticos que sintetizam uma estrutura lamelar em que as lamelas se orientam de modo a distribuir as cargas perpendiculares reproduzem fielmente a estrutura óssea (45, 46, 47). Estas observações sugerem que a acção das cargas (forças) distribuídas por todo o esqueleto, provavelmente produzindo microfracturas nos sítios em que a sua distribuição não está otimizada (48), é um dos sinais utilizados na regulação integrada da morfologia óssea. A necessidade de postular esta regulação emerge claramente nas perturbações estruturais que aparecem nas situações em que factores (paratormona, calcitriol) que o sistema utiliza para actuar sobre os efectores (osteoblastos, osteoclastos) passam a ser produzidos a uma taxa inapropriada.

1.1.6 GLÂNDULAS PARATIROIDEIAS E PARATORMONA

A PTH, um polipeptídeo de 84 amino-ácidos, é sintetizada nas células principais das glândulas paratiroideias. O produto inicial na síntese de PTH é um polipeptídeo de 115 aminoácidos que persiste durante 1 – 2 minutos após o que é transformado numa paratormona por remoção de 25 aminoácidos amino-terminal. Ao fim de 15 a 20 minutos, este polipeptídeo é exportado para o Golgi onde é convertido em PTH que é armazenada em vesículas onde sofre um processo contínuo de degradação. A taxa de degradação varia em paralelo com as calcémias e é tanto menor quanto maior for a taxa de secreção. É de esperar que estimulações súbitas da glândula se traduzam na produção de hormona com um atraso até 20 minutos. A acumulação em vesículas explica o aparecimento de picos de PTH no sangue quando há quedas súbitas da calcémia (49).

Os estudos de Brown (50) mostraram que o cálcio sérico é o principal regulador da taxa de secreção de paratormona.

A curva que relaciona a taxa de secreção da PTH com a calcémia é uma sigmóide invertida (ver curva a cheio da Figura 1.3.2). A relação entre a concentração sérica de PTH e a calcémia também é uma sigmóide invertida (51) colocada de modo a que à concentração normal de cálcio a secreção é cerca de $\frac{1}{4}$ da secreção máxima. Estes dados devem ser encarados com alguma cautela uma vez que não é possível realizar experiências em que se imobilizam as restantes malhas do sistema de regulação da calcémia pelo que as taxas de secreção para calcémias fixadas experimentalmente através da injeção de cálcio ou dos seus quelantes podem ser influenciadas por outros factores, como por exemplo pelas concentrações séricas de calcitriol. A acção do cálcio extracelular sobre a taxa a que a PTH é lançada na circulação exerce-se em pelo menos quatro fases do processo secretório: transcrição, processamento e degradação intracelular da proteína e libertação da hormona (52)

A paratormona circulante estimula a produção de calcitriol promovendo a 1α -hidroxilação da 25-hidroxivitamina D pelo rim (53), promove o refluxo de cálcio do osso (54) e regula o limiar de excreção renal de cálcio (55). O calcitriol circulante inibe a sua própria produção, regula a absorção intestinal de uma fracção do cálcio ingerido (56), e reduz a calciúria. O cálcio livre (57) e o calcitriol circulantes (58) inibem a produção de paratormona pelas glândulas paratiroideias.

1.1.7 VITAMINA D

A vitamina D, colecalciferol ou ergocalciferol, provém no ser humano de duas fontes: produção cutânea a partir do 7-dehidrocolesterol ou pela ingestão alimentar. Circula ligada a proteínas e apenas 0.03% na forma livre (59).

A vitamina D pode ficar armazenada no tecido adiposo ou ser transformada no fígado em 25(OH)D por uma enzima do citocrómio P-450. A síntese de 25(OH)D não é controlada pelo que os níveis plasmáticos desta reflectem a ingestão e a produção de vitamina D. A semi-vida da 25(OH)D é de cerca de 2-3 semanas (88).

Por acção da PTH ou de baixas concentrações de fosfato, uma enzima – 1 α -hidroxilase, existente nas células do túbulo contornado proximal, produz 1,25(OH) $_2$ D $_3$, ou calcitriol que é a hormona activa (60).

O calcitriol tem uma semi-vida de cerca de 6 horas. Actua em diferentes células do organismo por ligação a um receptor nuclear. Na homeostase do cálcio, é o calcitriol que promove a nível do intestino a absorção de cálcio (aumentando a transcrição dos genes das proteínas envolvidas no transporte do cálcio) e nas glândulas paratiroideias inibe a síntese da PTH (inibindo a transcrição do seu gene) e a proliferação celular (61). O calcitriol tem múltiplas acções conhecidas no osso: induz síntese de osteocalcina e reprime a síntese de colagénio tipo I, promove a diferenciação de osteoclastos, aumenta a reabsorção óssea. O calcitriol circulante também promove as trocas de cálcio entre o CEC e o osso mas só na presença de paratormona (56,62).

1.1.8 INTESTINO

A ingestão diária de cálcio varia, num adulto saudável e sem restrições alimentares, entre 700 e 900 mg/dia dos quais cerca de 30% são absorvidos no intestino delgado (63) .

Esta absorção é feita por 3 processos gerais: Um processo transcelular de transporte activo, saturável e que se localiza no duodeno e porção inicial do jejuno onde o quimo permanece apenas poucos minutos; um processo de transporte vesicular transcelular; um processo, paracelular, difusional que ocorre em todo o intestino durante cerca de 2 horas.

O transporte activo implica a entrada do cálcio pela membrana apical do enterócito através da ligação a moléculas transportadoras - CaT1 (TRPV6), seguido por um processo de difusão intracelular, na dependência de uma proteína citoplasmática – CaBP (“calbindin”) com uma afinidade para o cálcio quatro vezes maior do que a do CaT1. A saída do cálcio pela membrana basal

é um processo dependente essencialmente de uma CaATPase com uma afinidade para o cálcio aproximadamente 2,5 vezes maior do que a CaBP (64).

Os dois primeiros passos - ligação aos transportadores CAT1 e CaBP - são os factores limitantes deste processo uma vez que a biosíntese destas proteínas é maioritariamente dependente da presença de vitamina D (65). Na presença de elevadas concentrações de cálcio, a concentração de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ é muito reduzida e consequentemente, o transporte de cálcio por esta via é muito reduzido.

O transporte de cálcio através de vesículas do enterócito é um processo rápido, também na dependência da vitamina D, provavelmente por acção não genómica desta. Os mediadores deste transporte não são conhecidos.

O transporte paracelular é um processo não saturável de difusão nas junções celulares ao longo de um gradiente químico. A absorção depende de processos físicos e químicos locais tais como distância entre as células, do pH e da dissociação dos sais de cálcio.

O transporte de fosfato é menos conhecido. Além de um transporte paracelular, está descrito um processo transcelular, controlado, na dependência de um co-transporte Na/Pi (tipo IIb) localizado na membrana apical das células intestinais. Alterações da absorção de fosfato são condicionadas pela expressão deste co-transportador que depende da ingestão de fosfato (e do balanço de fosfato) e dos níveis circulantes de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (66).

A descrição matemática da absorção de cálcio poderia seguir duas estratégias:

- Uma descrição das variações instantâneas da absorção de cálcio ao longo do intestino, que como já descrevemos, não é constante nesta superfície;

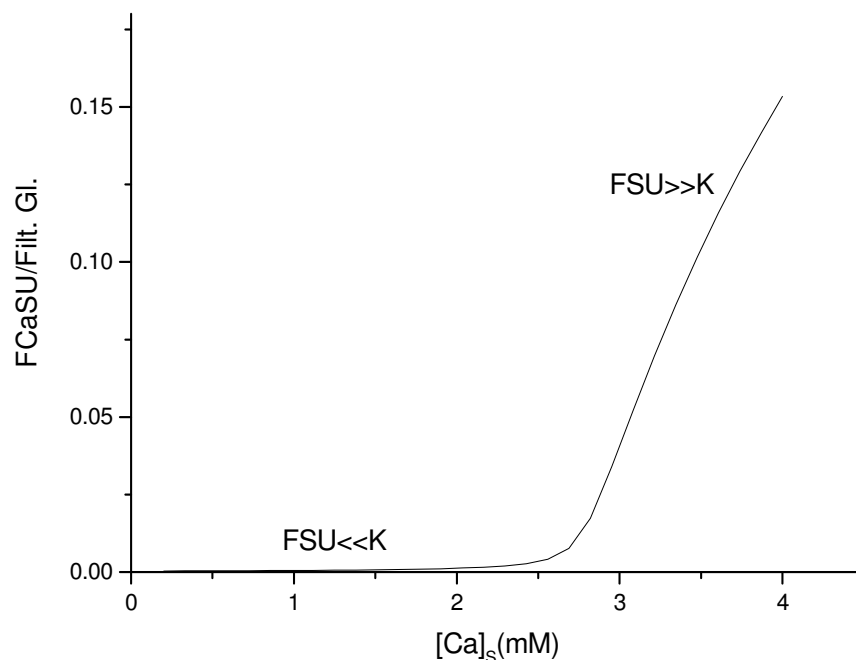
- Uma descrição tipo “caixa preta”, por nós utilizada, em que se considera o compartimento *intestino* como homogéneo, i.e, não são consideradas as variações e a importância relativa dos processos de absorção ao longo do intestino. Nesta modalidade considera-se por um lado as entradas de cálcio representadas pela sua ingestão e por outro, as saídas de cálcio do intestino para o sangue e que se podem considerar como o somatório de um processo saturável, controlado e de um processo difusional.

1.1.9 RIM

O rim desempenha um papel importante na homeostasia do cálcio e do fósforo. Por um lado, controla a eliminação destes iões pela urina intervindo na sua reabsorção, por outro lado produz uma hormona essencial nesta regulação, a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ ou calcitriol.

Cerca de 10 g de cálcio são filtrados diariamente pelos glomérulos renais dos quais menos de 3% são excretados. A maior parte (aproximadamente 65%) é reabsorvida no túbulo contornado proximal; 20% é reabsorvida na ansa de Henle; 10% no túbulo distal e 5% nos tubos colectores. A excreção urinária final de cálcio é de aproximadamente 300 mg/ dia (67).

A reabsorção nas porções proximais do nefrónio está dependente da carga tubular de cálcio e é um processo passivo, paracelular. No ramo ascendente da ansa de Henle, este transporte está dependente da actividade do receptor de cálcio aí localizado. Nas porções distais o transporte de cálcio é



FFigura 1.1.9.1 Relação entre as concentrações de cálcio sérico e respectiva excreção urinária. A excreção de fósforo pode ser descrita de forma semelhante. Ver texto para mais normenores.

controlado pela PTH. O cálcio entra na célula tubular através de um canal, EcaC, por gradiente electroquímico. A PTH controla este processo (68).

Diariamente são excretados uns 900 mg de fosfato que representam cerca de 10% da carga tubular inicial. O fosfato é também maioritariamente reabsorvido a nível do túbulo contornado proximal (cerca de 80% do filtrado glomerular). 8% são reabsorvidos no túbulo distal. A PTH controla este processo inibindo a reabsorção de fosfato ao longo de todo o túbulo (67). A reabsorção de fosfato faz-se por via transcelular através de um cotransportador Na/Pi (tipo IIa). Em resposta à PTH estes transportadores são metabolizados no interior das células renais, impedindo a reabsorção de fosfato (69).

A reabsorção de fosfato é também controlada pelo seu balanço externo por mecanismos ainda não esclarecidos. A diminuição da ingestão de fosfato promove a expressão do cotransportador Na/Pi independentemente e por vezes em oposição às concentrações de PTH (70).

As cinéticas da excreção de cálcio (ou de fósforo) em função das respectivas concentrações no soro seguem um padrão semelhante representado na Figura 1.1.9.1

Se designarmos a carga tubular por F_{tub} que é determinada pelo produto do Filtrado Glomerular (FG) pela concentração sérica de Ca ou P (C_s) a excreção urinária (FSU) é o que resta de F_{tub} depois da reabsorção tubular. A reabsorção tubular tem dois componentes: um componente saturável que obedece a uma simples cinética de saturação (F_{sat}) dada pela expressão:

$$F_{sat} = T_m \cdot C_u / (K + C_u)$$

em que T_m é a capacidade máxima de reabsorção tubular, C_u a concentração final na urina e K a afinidade do respectivo processo de transporte; um componente não saturável que é uma fracção fixa (beta) da carga (F_{tub}). Portanto:

$$F_{tub} - \text{Beta} \cdot F_{tub} - T_m \cdot C_u / (C_u + K) - \text{FSU} = 0$$

e

$$\text{FSU} = VU \cdot C_u$$

em que VU é a diurese.

Multiplicando ambos os membros da fracção por VU:
e definindo $KU=K.VU$

$$F_{tub} - \beta F_{tub} - T_m.FSU/(FSU+KU) - FSU = 0.$$

ou

$$F_{tub}(1 - \beta) - T_m.FSU/(FSU+KU) - FSU = 0$$

É uma equação quadrática em FSU representada na Figura 1.1.8.1 em FSU que se pode resolver algebricamente.

Quando a reabsorção saturável está saturada ($FSU \gg K$) e se :

$$\alpha = 1 - \beta$$

$$FSU = \alpha.F_{tub} - T_m$$

Dividindo ambos os membros por F_{tub} :

$$FSU/F_{tub} = \alpha - T_m/F_{tub}$$

ou

$$FSU/F_{tub} = \alpha - (T_m/FG)/C_s$$

Se designarmos T_m/FG por C_t

$$FSU/F_{tub} = \alpha - C_t/C_s$$

Esta é a expressão usada por Bijvoet (71) para normalizar as fosfatúrias.

Para cargas tubulares muito baixas e portanto excreções urinárias baixas a expressão reduz-se a

$$\alpha.F_{tub} - (T_m/K).FSU - FSU = 0$$

ou seja

$$FSU = F_{tub} . \alpha / (1 + T_m/K)$$

ou

$$FSU/F_{tub} = \alpha / (1 + T_m/K)$$

ou seja a fracção da carga tubular excretada é constante e independente desta.

Entre estas duas situações há uma transição correspondente à solução da equação quadrática integral. Bijvoet não usou este tratamento optando por fazer um assentamento de uma função arbitrária à parte curvilínea da função.

1.2 MÉTODOS DE MEDIDA

A construção de um modelo obriga a que não só as relações qualitativas entre os vários elementos sejam bem conhecidas mas que os dados quantitativos utilizados sejam baseados em métodos válidos.

Para as determinações do cálcio total no soro e na urina vários métodos têm sido utilizados. A espectrometria de absorção atômica é o método de referência para esta determinação com coeficientes de variação intra-ensaio $<1\%$ e inter-ensaio $<2\%$ (72). Pela sua complexidade não é o método utilizado para doseamentos de rotina.

A espectroscopia de emissão atômica por chama utiliza-se em alguns laboratórios clínicos (permite ser adaptado a analisadores multi-canal) e tem coeficientes de variação intra-ensaio $<0.5\%$ e inter-ensaio $<0.8\%$ (73) mas é menos específico para catiões bivalentes do que para catiões univalentes.

Os métodos fotométricos (em que a ligação do cálcio a determinados compostos forma um complexo corado que pode ser medido) são utilizados na maior parte dos analisadores multi-canal. Estão adaptados à rotina de grande número de análises e têm coeficientes de variação intra-ensaio de cerca de 1% e inter-ensaio inferior a 2% (74).

A concentração de cálcio sérico total obtida por estes métodos deverá ser corrigida de acordo com as proteínas circulantes. Para isso utilizam-se fórmulas que fazem esta correcção de acordo com a concentração sérica de albumina (fórmula de Payne) (75) ou com a concentração de proteínas totais (fórmula de Husdan) (76).

Nenhum dos métodos referidos mede a concentração de cálcio livre (iónico). Em unidades de cuidados intensivos ou em doentes que podem estar sujeitos a variações grandes destas variáveis (ou em que se encontrem em situações extremas de concentrações de proteínas no plasma) deve optar-se por um método de determinação de cálcio ionizado.

O cálcio ionizado mede-se com eléctrodos de cálcio. Estes eléctrodos podem existir isoladamente ou mais frequentemente integrados em aparelhos de determinação de gases no sangue (77). Com estes eléctrodos obtêm-se coeficientes de variação intra-ensaio de cerca de 1% e inter-ensaio inferior a

2%. Esta tecnologia está em evolução rapidíssima com custos progressivamente decrescentes (78).

As determinações de fosfato inorgânico são actualmente efectuadas por métodos de ligação a molibdénio formando um complexo que pode ser lido (quantificado) por absorção directa (UV) ou indirecta (visível). Os coeficientes de variação intra-ensaio são inferiores a 2% no método de absorção directa e inferiores a 3% no método de medição indirecta (utilizado nos analisadores multi-canal) (79).

A medição da concentração sérica de paratormona levantou vários problemas. Em solução a molécula intacta é clivada rapidamente (semi-vida de 2-4 minutos) e existe em pequena quantidade em circulação 9 a 55 pg/mL (1-6 pmol/L). Os fragmentos resultantes da clivagem (por exemplo, o fragmento N-terminal que se acumula na insuficiência renal) (80) interferiam nos métodos existentes. Estes problemas foram ultrapassados pela instalação de métodos imunoradiométricos (IRMA na literatura inglesa) que têm boa sensibilidade (conseguem detectar as baixas concentrações) e que pela utilização de dois anticorpos diferentes permitem detectar apenas a molécula *intacta* (boa especificidade) (81).

O doseamento de calcitriol é ainda hoje o menos fiável, tendo sido propostas várias técnicas. Inicialmente usava-se a cromatografia gasosa de alta pressão (HPLC). Actualmente utilizam-se técnicas em que se faz primeiro uma extracção, seguida de purificação e posterior doseamento por radioimunoensaio ou ligação a radioreceptores e separação (geralmente em coluna de cromatografia). A quantificação das concentrações séricas de $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ depende nestas técnicas, da afinidade relativa dos receptores ou dos anticorpos para a $1,25(\text{OH})_2\text{D}_2$ e $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (82). No caso dos receptores esta afinidade parece depender dos tecidos de onde estes são extraídos. As técnicas de radioimunoensaio estão também na dependência da reacção cruzada com outros metabolitos da vitamina D. Estas técnicas têm sensibilidades variáveis. (83)

1.3 CONCEITO DE REGULAÇÃO E DE SISTEMA

A palavra sistema é usada em medicina para designar um conjunto de órgãos anatómica e funcionalmente integrados. Neste sentido o sistema cardiovascular designa o conjunto do coração e dos vasos e o sistema endócrino o conjunto das glândulas de secreção interna.

Os avanços da biologia celular vieram dificultar a definição de certos sistemas. A produção de transmissores nas sinapses não se distingue da produção de aminas simpáticomiméticas na medula da suprarrenal ou dos factores de libertação (“release factors”) pelo hipotálamo. Funcional e biologicamente é muito difícil separar os sistemas nervoso e endócrino. De momento não é importante prolongar esta análise porque iremos adoptar o conceito de sistema dos engenheiros (84): *“entidade que manipula um ou mais sinais para realizar uma função, produzindo novos sinais”. “Um sinal é uma função de uma ou mais variáveis que transporta informação sobre a natureza de um fenómeno físico.”*

Iremos adaptar estas definições à fisiologia da regulação da calcémia. Neste contexto são *sinais* as grandezas observáveis, variáveis em função do tempo que designaremos abreviadamente por *variáveis* (calcémia, fosforémia, concentrações circulantes de paratormona e calcitriol, calciúria, fosfatúria, etc.) As glândulas paratiroides podem ser consideradas um sistema que “manipula” as concentrações circulantes instantâneas de cálcio, fosfato e calcitriol para produzir a taxa de secreção de paratormona. Manipulação significa aqui a relação funcional, que neste caso pode ser vista num gráfico com quatro eixos, três para as variáveis independentes (cálcio, fosfato e calcitriol) e um para a variável dependente (quantidade de paratormona segregada por unidade de tempo).

Por outro lado as glândulas paratiroides podem ser um componente de um conjunto mais vasto, que também é um sistema, que inclui o osso, o rim e o intestino (*órgãos alvo ou efectores*) cujo funcionamento integrado é determinado pelas trocas com o ambiente e pelas concentrações circulantes de certos factores (paratormona, calcitriol, cálcio, fósforo) e visa a regulação da calcémia e da fosforémia.

Os climatizadores (controladores) são exemplos de sistemas de regulação. Caracterizam-se por fixarem a temperatura (variável controlada) num ambiente confinado (sistema controlado) em torno de um valor pré-definido (referência) a despeito de perturbações como a produção de calor por pessoas, a abertura ocasional de portas, etc. (perturbação). A regulação pode fazer – se de duas maneiras. A mais comum consiste em medir continuamente a temperatura com um sensor e injectar frio ou calor conforme o seu valor esteja acima ou abaixo da referência.

Neste caso o sistema actua depois de haver uma alteração da temperatura, por retro-alimentação, realimentação ou “feedback negativo” (Figura 1.3.1).

Outra estratégia consiste em prever o efeito de uma perturbação – a abertura de uma porta.

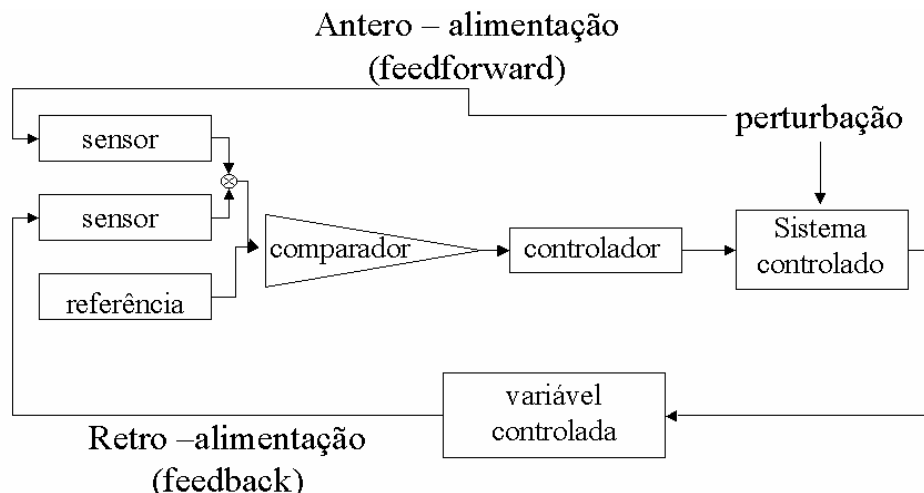


Figura 1.3.1 Diagrama de Blocos de Modelo Genérico de Sistema de Regulação. Para pormenores ver texto.

Recorrendo a um programa baseado num modelo do sistema leva o controlador a prevenir os efeitos da perturbação – antero – alimentação ou “feedforward”.

O funcionamento dos sistemas fisiológicos é caracterizado quantitativamente por vários índices (parâmetros): 1 - a sua afinidade para os sinais controladores definida como o valor do sinal (calcémia por exemplo) – a que corresponde uma resposta a meio da gama dinâmica (diferença entre as

respostas máxima e mínima); 2 - a sua sensibilidade (ou ganho) que é a variação da resposta por unidade de variação do sinal controlador a meio da gama dinâmica. Os factores controladores podem ter uma relação positiva (estimulação) ou negativa (inibição) com a resposta. Em estado estacionário e em regime (ou situação) normal os valores das variáveis são também descritos como pontos operacionais (“set points” da literatura inglesa). Frequentemente os pontos operacionais têm valores muito próximos das afinidades mas como

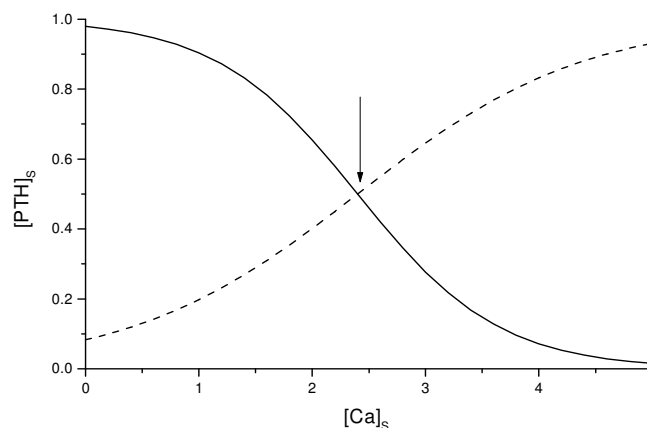


Figura 1.3.2 Representação das relações entre as concentrações séricas de cálcio e PTH. Para mais pormenores ver texto. A seta indica o ponto operacional da regulação do cálcio sérico.

os sistemas biológicos têm várias malhas o valor “normal” de uma variável controladora não é necessariamente idêntico às afinidades de todos os receptores alvo.

Na Figura 1.3.2 a curva a traço contínuo representa a relação entre as concentrações estacionárias de cálcio e PTH quando se variam independentemente (infusões) as concentrações cálcio no soro, ao passo que a curva a tracejado representa o que se observa quando se variam independentemente as concentrações séricas de PTH.

Quando o sistema não é perturbado os valores da calcémia e da concentração sérica de PTH têm de satisfazer simultaneamente as duas curvas, ou seja correspondem o ponto de cruzamento indicado pela seta. Este é o ponto designado por “set point”.

A identificação de um sistema regulador ou de uma *variável ou grandeza regulada* (calcémia) faz-se quando a despeito de desafios externos (carências ou sobrecargas) essa grandeza flutua muito menos do que seria de prever num sistema passivo – um CEC que se comportasse como um reservatório isolado.

Finalmente um sistema pode responder mais ou menos rapidamente , uma propriedade frequentemente designada por *tempo de resposta ou constante de tempo*, cuja definição depende do tipo de sistema. Muito geralmente define – se como o tempo que um sistema leva para alcançar 90% da sua resposta final quando perturbado por um variação súbita entre dois valores estacionários da variável controladora¹³.

¹³ Convém distinguir entre *respostas constantes* e *estacionárias*. Fala-se de resposta constante de um sistema quando ele responde sempre da mesma maneira à mesma perturbação. Isto significa que as características do sistema (os seus parâmetros- afinidades, ganhos, tempos de resposta, etc.) não mudam. Uma resposta é estacionária quando tanto a variável controlada como a resposta não mudam no tempo.

1.4 OS QUADROS CLÍNICOS: CRITÉRIOS GENÉRICOS

Ao longo deste trabalho falaremos de diferentes quadros clínicos que traduzem alterações da homeostasia do cálcio e fósforo. Nesta secção serão referidas as principais características clínicas e laboratoriais destas situações bem como os mecanismos fisiopatológicos propostos que explicariam a sua génese.

Por facilidade de sistematização estas doenças podem ser separadas em quadros de hiper vs. hipocalcémia.

1.4.1 HIPERCALCÉMIAS

1.4.1.1 HIPERPARATIROIDISMO PRIMÁRIO

Esta situação é diagnosticada quando existe uma secreção inapropriadamente aumentada de paratormona. Existe um defeito primário nas glândulas paratiroideias encontrando-se um adenoma em aproximadamente 85% dos casos, carcinoma em menos de 1% e hiperplasia, adenomas múltiplos ou hiperfunção policlonal nos restantes (85). Em consequência desta alteração existe aumento de 1-alfa-hidroxiilação da 25(OH) vitamina D, da reabsorção renal de cálcio, da fosfatúria e da reabsorção óssea.

O quadro clínico é caracterizado por hipercalcémia, hipofosfatémia, hipercalcúria e perda de massa óssea.

As sequelas clínicas da hipercalcémia dependem do tempo de evolução desta. Eram elas que, até à existência de medições simples da calcemia, eram o marcador de doença. É possível hoje descrever um hiperparatiroidismo primário *clássico* caracterizado por doença óssea extensa (osteíte fibrosa quística, desmineralização óssea generalizada, reabsorção sub-periosteal, tumores castanhos, quistos ósseos e fracturas patológicas) e doença renal (nefrolitíase, nefrocalcinose e alterações da função renal). É uma situação raramente encontrada na prática clínica diária. Mais frequente é hoje (incidência 0.04-0.3‰ (86, 87) o hiperparatiroidismo assintomático (*moderno*) caracterizado por hipercalcémia ligeira e pequenas alterações ósseas (88).

No hiperparatiroidismo primário pode existir um aumento do número de células através da deleção de genes supressores (89), de proto-oncogenes como o gene da ciclina 1 (90), por alteração de factores de transcrição (91) e/ou uma desregulação da calcemia como consequência de uma alteração das

afinidades ou da sensibilidade (ganho) dos receptores ao cálcio e/ou calcitriol (92, 93).

1.4.1.2 HIPERCALCÉMIA HIPOCALCIÚRICA FAMILIAR

É uma doença genética de transmissão autossômica dominante caracterizada pela existência de hipercalcémia ligeira ou moderada (geralmente $<12 \text{ mg/dL} - 3\text{mM}$), hipofosfatémia (ligeira), hipocalciúria e níveis de paratormona inapropriadamente normais atendendo à hipercalcémia. É geralmente assintomática, não se descrevendo outras alterações clínicas associadas. As características laboratoriais desta doença podem ser confundidas com as do hiperparatiroidismo primário, tornando-se possível a sua distinção pela história familiar (94) ou por estudo genético.

Nesta doença existe uma mutação inactivadora do gene do receptor do cálcio nas glândulas paratiroideias, rim e outros órgãos que origina uma alteração da função deste receptor (95), e em consequência uma modificação do ponto operacional da curva de resposta da paratormona ao cálcio na paratiroideia e no rim, a um aumento da reabsorção de cálcio não dependente da paratormona (96).

1.4.1.3 TOXICIDADE PELO LÍTIO

Na terapêutica prolongada com lítio pode haver hipercalcémia ligeira ou moderada normalmente assintomática e que cursa com níveis normais ou ligeiramente elevados de paratormona (97) e aumento estrutural das glândulas paratiroideias (98) .

Estudos *in vitro* demonstraram uma deslocação do ponto operacional da resposta da secreção de PTH ao cálcio para valores mais altos (99), provavelmente por interferência no receptor de cálcio (100).

1.4.1.4 HIPERCALCÉMIA TUMORAL

Alguns tipos de carcinomas têm na sua evolução como complicação a existência de hipercalcémia. Em mielomas múltiplos e em carcinomas da mama a hipercalcemia surge como consequência da invasão directa do osso pelos tumores. Verifica-se, em biopsias ósseas, existir a presença de osteoclastos activados perto das células tumorais. Existirão provavelmente

mediadores químicos (linfotóxina, interleucina-1 β e 6) produzidos pelos tumores que promovem a activação dos osteoclastos e através destes, a reabsorção óssea localizada (101).

Em carcinomas epidermóides do pulmão, da cabeça e pescoço, esófago, colo do útero, vulva e da pele; carcinoma da mama, carcinoma de células renais, e da bexiga; feocromocitomas, tumores dos ilhéus pancreáticos, tumores carcinóides e no linfoma de células T, a hipercalcémia pode surgir por produção de um péptido com 141 aminoácidos de acção semelhante à paratormona (PTHrP da literatura anglo-saxónica) (88). A PTHrP liga-se e promove a activação do receptor de PTH. Reproduz quando em infusão aguda os efeitos biológicos da PTH no osso, no rim e no intestino. Estes doentes apresentam hipercalcémia e hipofosfatemia com níveis baixos de paratormona. Ao contrário do hiperparatiroidismo primário (e em oposição também ao efeitos encontrados *in vitro*) verifica-se existir também uma redução das concentrações séricas de calcitriol (por provável inibição da 1 α -hidroxilase pela hipercalcémia ou por outros factores produzidos pelo tumor) (102).

1.4.1.5 DOENÇA DE JANSEN

Esta doença é caracterizada pela existência de hipercalcémia, hipofosfatemia e níveis elevados de calcitriol com concentrações séricas de paratormona e PTHrP indoseáveis (103). O quadro clínico é também composto por alterações ósseas (condrodisplasia e osteíte fibrosa quística).

Verificou-se existir nesta doença uma activação constitutiva do receptor da paratormona e PTHrP (104) que conduz às alterações laboratoriais por acção do tipo PTH (105) e às alterações da formação óssea por acção do tipo PTHrP durante o período embrionário (106).

1.4.1.6 HIPERCALCÉMIAS DEPENDENTES DA VITAMINA D

As hipercalcémias dependentes da vitamina D podem surgir por excesso de ingestão (iatrogénica ou accidental) (107) ou por alteração do metabolismo desta vitamina como acontece nas doenças granulomatosas, (sarcoidose) (108). Neste caso a 1-hidroxilase expressa fora do parênquima renal não parece estar sujeita à mesma regulação da enzima renal. Clinicamente surge hipercalcúria geralmente associada a hipercalcémia

moderada a grave, com concentrações sérias de paratormona inferiores aos limites de sensibilidade dos métodos de doseamento correntes.

1.4.1.7 OUTRAS

Existem muitas outras situações clínicas em que se descrevem aumentos das concentrações séricas de cálcio. São exemplo: o hipertiroidismo (por provável acção directa no osso (109)), a intoxicação pela vitamina A (também por provável acção directa no osso (110)), a insuficiência suprarrenal (por diminuição da função renal (111)), o uso de diuréticos do tipo das tiazidas (que aumentam a reabsorção renal de cálcio (112)), o síndrome Milk-alkali (com aumento da oferta intestinal de cálcio e a alcalose que diminui a excreção urinária de cálcio (113)), a hipercalcémia da imobilização prolongada (por aumento da reabsorção óssea (114)), o hiperparatiroidismo terciário da insuficiência renal (115), ...

1.4.2 HIPOCALCÉMIAS

1.4.2.1 HIPOPARATIROIDISMO

Os quadros de hipoparatiroidismo podem ser congénitos ou mais frequentemente adquiridos. A causa mais frequente destes é serem uma das complicações da cirurgia da tiroideia ou das cirurgias radicais da região cervical (136). O hipoparatiroidismo pode também resultar da remoção intencional das glândulas paratiroideias.

O quadro de hipocalcémia por hipoparatiroidismo auto-imune pode surgir associado a outras doenças endócrinas (p.ex. no Síndrome pluriglandular auto-imune (116) ou isolado. Em algumas doenças genéticas há ausência de glândulas paratiroideias funcionantes (p.ex.: Síndrome de DiGeorge (117).

1.4.2.2 PSEUDOHIPOPARATIROIDISMO

Verifica-se existir em algumas famílias, hipocalcémia , hiperfosfatemia e níveis elevados de paratormona que se denominam por pseudohipoparatiroidismo. Estes quadros podem ser acompanhados por alterações ósseas características – osteodistrofia hereditária de Albright (118). Estão descritos vários subtipos de pseudohipoparatiroidismo (Ia, Ib, Ic, II e

pseudopseudohipoparatiroidismo). De um modo geral pode-se afirmar que estes quadros de expressão clínica e laboratorial muito variada são caracterizados por alterações do receptor da paratormona (a nível da expressão ou da actividade da proteína Gs, da expressão do receptor, ou da cadeia de reacções pós-receptor – IP3 ou cálcio intracelular) (119).

1.4.2.3 ALTERAÇÕES DO METABOLISMO DA VITAMINA D

Os quadros de hipocalcemia podem surgir no contexto de uma deficiência de vitamina D ou de uma resistência às acções do calcitriol. Laboratorialmente estas situações são caracterizadas por hipocalcémia de moderada ou grave (por menor absorção intestinal de cálcio), hipofosfatémia (por excreção urinária aumentada) e hiperparatiroidismo (secundário à hipocalcémia) (88).

A deficiência de vitamina D pode surgir integrada num quadro de má absorção (por má absorção de gorduras) ou por perdas aceleradas no intestino (120). Estão descritas também alterações da 25-hidroxição hepática da vitamina D (121) que produzem um quadro semelhante. A diminuição da 1-hidroxição da 25-vitamina D é muito frequente nos quadros de insuficiência renal, especialmente quando o filtrado desce além dos 30-40 mL/min. O quadro metabólico e clínico é mais complexo do que o simples deficit de vitamina D: há hipocalcémia (por menor absorção intestinal), hiperfosfatémia (pela insuficiência renal) que condiciona ainda níveis mais baixos de calcémia e de calcitriol. Há um hiperparatiroidismo secundário que leva a um aumento da reabsorção óssea de cálcio e fosfato (88).

O raquitismo dependente da vitamina D – tipo I é uma situação congénita autosómica recessiva em que há uma mutação do gene da 1 α -hidroxilase e que clinicamente é sobreponível à deficiência de vitamina D. Laboratorialmente existe no entanto um nível normal ou elevado de 25 vitamina D acompanhado de níveis reduzidos de calcitriol (122).

O raquitismo dependente da vitamina D – tipo II tem também uma transmissão autosómica recessiva. É caracterizado por uma resistência à acção do calcitriol por mutação do seu receptor celular. Laboratorialmente encontramos hipocalcémia, hipofosfatemia, hiperfosfatemia e um

hiperparatiroidismo secundário semelhante às deficiências de vitamina D mas cursando com níveis elevados de calcitriol (123).

1.4.2.4 HIPOCALCÉMIA AUTOSSÓMICA DOMINANTE

Este quadro clínico é caracterizado por hipocalcémia ligeira ou moderada (6 a 8 mg/dL – 1.5 a 2 mM), por vezes com hiperfosfatémia e níveis séricos de paratormona no quartil inferior da respectiva curva normal de distribuição. Clinicamente é pois uma hipocalcémia hipercalcúrica familiar. Estes doentes estão geralmente assintomáticos (excepto uma maior prevalência de convulsões febris descritas). Estão descritas mutações no domínio extra-celular ou na zona trans-membranar do receptor do cálcio. Por mecanismos ainda não conhecidos, estas mutações traduzem-se por uma activação constitutiva do receptor com aumento dos níveis intracelulares de IP3¹⁴ (124,125).

Em conclusão, a concentração de cálcio no CEC, (e portanto a calcémia) é controlada por um sistema não linear de malha múltipla cujo comportamento se não pode prever intuitivamente. As previsões quantitativas terão de ser baseadas em modelos matemáticos à semelhança do que é prática corrente em relação à regulação da glicemia.(126, 127).

Hoje é possível caracterizar com algum pormenor a homeostase do cálcio na saúde e na doença (128) porque é possível medir expedita, específica e rigorosamente as concentrações de cálcio, fosfatos, paratormona e calcitriol nos líquidos orgânicos. Os dados já acessíveis na literatura permitem um razoável ajuste paramétrico dos modelos.

Dos muitos factores que influenciam o metabolismo do cálcio e dos fosfatos (5) mencionámos aqueles que estão melhor estudados e que muito provavelmente são os mais importantes na clínica para a identificação de mecanismos fisiopatológicos. Este é o ponto de partida para o modelo matemático que a seguir se apresenta. O modelo só inclui aqueles

¹⁴ inositol trifosfato

mecanismos (relações cinéticas) sem os quais não seria possível simular o conjunto de observações em humanos que estão acessíveis na literatura.

1.5 OBJECTIVOS DA TESE

Análise dos registos de dados a que o Serviço de Endocrinologia do IPOFG-CROL,SA tem acesso contendo informação relativa ao metabolismo Ca-P para :

1. caracterizar estatisticamente os padrões bioquímicos numa população de indivíduos normais ou em que há alterações da homeostase do cálcio
2. tentar encontrar correlações funcionais analíticas entre as diferentes variáveis com importância na caracterização das alterações da homeostase do cálcio
3. estimar parâmetros que possam ser usados no modelo.
4. construir um modelo matemático dinâmico do sistema que regula a calcémia e a fosforémia e que possa ser usado para :
 - a. interpretar experiências clínicas agudas em pessoas normais ou que padecem de disfunções bem caracterizadas da homeostase do cálcio
 - b. analisar as repercussões de manipulações dos principais factores que controlam a calcémia e a fosforémia
 - c. analisar as consequências funcionais de anomalias nas propriedades (parâmetros) do sistema que controla a calcémia e a fosforémia
 - d. desenhar experiências clínicas destinadas ao diagnóstico funcional dessas desregulações.

CAPÍTULO II - MATERIAL E MÉTODOS

2.1 CONSTRUÇÃO DO MODELO

O desenho de modelos matemáticos de sistemas biológicos compreende várias fases.

A primeira é a identificação dos componentes do modelo que são de vários tipos:

- as variáveis: são quantidades que exprimem o funcionamento do sistema. Podem ser manipuláveis externamente (caso da ingestão de cálcio) ou não (caso da excreção urinária de cálcio). Neste último caso o seu valor instantâneo é determinado pelo estado funcional do sistema.
- os órgãos alvo (Glândulas Paratiroideias, Rim, Osso, Intestino) que produzem ou estão sob controlo de factores (hormonas) que modificam processos (síntese de calcitriol ou de PTH).
- os processos que são as descrições cinéticas da síntese ou actuação dos factores ou dos movimentos de moléculas entre compartimentos¹⁵.

A escolha dos componentes deve obedecer a um princípio de economia. É necessário especificar previamente os objectivos das simulações. No caso presente pretende-se simular a regulação da calcemia. Escolheram-se os componentes que permitem simular observações conhecidas do comportamento dessa regulação em condições normais e patológicas.

A segunda fase é a escolha do tipo geral de sistema. Na prática consideram-se dois grandes grupos de sistemas:

- de parâmetros concentrados: neste caso considera-se que os componentes se distribuem descontinuamente por compartimentos (ambiente, compartimentos extra e intracelulares no caso presente) geralmente em número reduzido. Considera-se que em cada compartimento (por exemplo o espaço extracelular) cada variável

¹⁵ As *descrições cinéticas* são relações matemáticas que incluem três tipos de elementos variáveis: *I*- variáveis (descritas acima); *II*- operadores do cálculo (+, -, :, x, etc.); *III*- parâmetros (grandezas constantes das relações matemáticas). Numa relação linear do tipo $Y = a + b \cdot X$, X e Y são variáveis, $+$ e \cdot são operadores e a e b são parâmetros.

tem um valor instantâneo único em todo o compartimento – compartimento homogêneo.

- de parâmetros distribuídos: quando o valor instantâneo das variáveis varia continuamente no espaço. O túbulo renal é um exemplo. Em estado estacionário a concentração de sódio na urina tubular varia ao longo do túbulo.

No caso presente ainda que órgãos como o rim ou o intestino sejam por natureza distribuídos foram representados por “caixas pretas” caracterizadas por parâmetros concentrados. O rim, por exemplo, está representado pelas relações entre as concentrações plasmáticas das variáveis (cálcio ou fósforo) e a sua excreção. Esta representação corresponde ao conceito clínico de depuração.

A terceira fase do modelo é a escolha do tipo geral de simulações conforme se pretendem simular situações estacionárias ou situações dinâmicas (transitórios). Até muito recentemente a maioria esmagadora dos modelos era do primeiro tipo.

Exemplos deste tipo de modelação são a descrição analítica das relações entre fósforo plasmático e fosfatúria de Bijvoet (71), ou das relações entre a secreção de PTH e calcemia (57). Trata-se de simulações que são indistinguíveis do simples assentamento de curvas a menos que resultem da formulação de relações que expressem processos moleculares fundamentais.

O objectivo último da síntese do modelo presente foi a construção de uma ferramenta que possa ser usada na interpretação fisiopatológica de situações clínicas. Este objectivo determinou em grande parte a escolha dos componentes.

A Figura 2.1.1 descreve o modelo aqui idealizado. Três dos quatro órgãos alvo considerados neste sistema são: o osso com uma resposta temporal na ordem de minutos a horas (5); o rim com uma resposta em horas (140) e o intestino que responde às alterações da concentração extracelular de calcitriol com um atraso de dias (56). Uma fracção do cálcio excretado na urina, dos movimentos de cálcio através da parede do intestino (difusão) e a deposição do cálcio no osso parece ser determinada por factores físico-químicos simples, não hormonais, tais como a concentração de cálcio iónico no líquido extracelular e a existência no osso de centros de nucleação.

As concentrações extracelulares de cálcio e fosfato são determinadas por dois balanços: um balanço interno mais rápido (trocas com o osso – no caso do cálcio e também com o compartimento intracelular – no caso do fosfato) e um balanço externo mais lento que representa as trocas com o ambiente através do intestino e do rim.

No modelo existem onze compartimentos. Oito não necessitam de descrição especial: representam a quantidade total de cálcio, fosfato, PTH e calcitriol no líquido extracelular, a quantidade permutável de cálcio e fosfato no osso, a quantidade de fosfato intracelular e a quantidade total de $1-\alpha$ -hidroxilase. Como a taxa de síntese de calcitriol é proporcional à quantidade de $1-\alpha$ -hidroxilase, esta foi expressa no modelo como a quantidade de calcitriol produzida por unidade de tempo. Trata-se de uma prática correntemente usada em laboratório para exprimir concentrações de enzimas. Num modelo compartimental a velocidade a que a concentração de um componente varia num compartimento é determinada pelo tamanho do compartimento e pela taxa a que ocorrem as trocas através das suas fronteiras. Se quisermos simular transitórios mais lentos teremos de introduzir processos que modifiquem as taxas de troca no decorrer dos transitórios o que corresponde a modificar as propriedades da parede do compartimento. Esta estratégia foi adoptada no presente modelo em que se considerou que em cada instante apenas uma fracção dos transportadores renais para fósforo ou cálcio ou do parênquima secretor das paratiroideias estava activa e que esta fracção era determinada por certas variáveis do modelo. Três outros compartimentos deste tipo foram introduzidos para traduzir a resposta temporal mais lenta das trocas de cálcio em relação ao calcitriol e a resposta da excreção renal de fosfato ao seu balanço externo: A quantidade de glândula paratiroideia representa a fracção de massa secretora de glândula que está activa em cada momento; a quantidade de transportadores de cálcio no intestino representa a fracção de transportadores de cálcio dependente de calcitriol; a quantidade de transportadores de fosfato no rim representa a fracção de transportadores de fosfato dependente do balanço externo. Estes três compartimentos são quantificados sem dimensões.

As definições seguintes aplicam-se em relação às quantidades utilizadas no modelo: parâmetros (taxas de degradação, taxas máximas de síntese ou

transporte, permeabilidades, afinidades para hormonas, etc.) que são constantes excepto se sujeitas a uma perturbação externa; variáveis

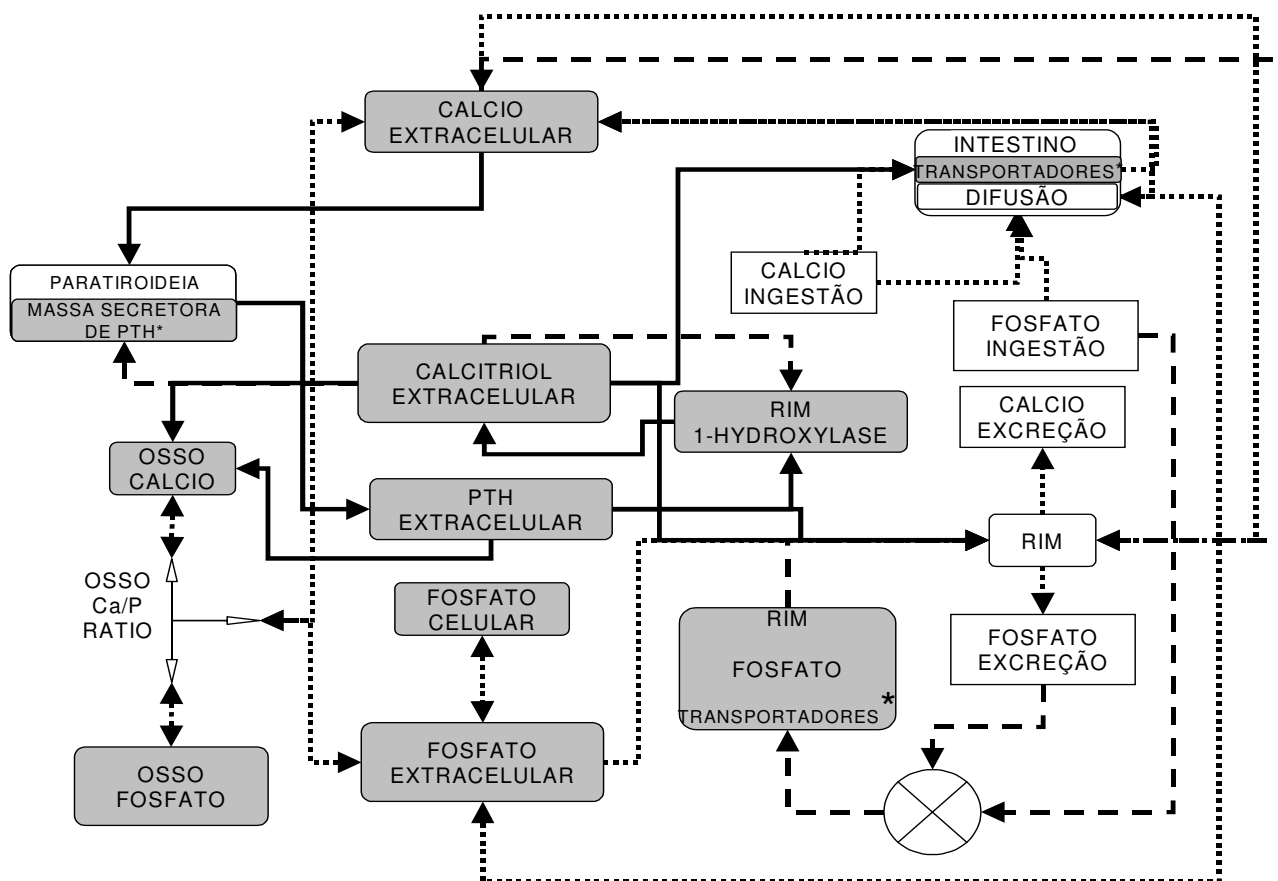


Figura 2.1.1 Diagrama de Blocos do Modelo da Homeostase do Cálcio. Linhas a cheio: acção de factores controladores. Linhas a tracejado: acção de factores de retro-controlo; Linhas a ponteadas: fluxos de cálcio e de fosfato; Setas: equações do modelo; Rectângulos arredondados sombreados: compartimentos; Rectângulos arredondados em claro: órgãos alvo; Rectângulos: trocas com o exterior; Círculo cruzado: ponto de somação.; Setas em claro: estequiometria Ca/P da hidroxiapatite.; * compartimentos em que foi introduzido um atraso ajustável.

intrínsecas (concentração extracelular de cálcio, PTH ou calcitriol) que são calculadas pelo modelo e não podem ser manipuladas directamente numa situação real; variáveis extrínsecas (ingestão de cálcio e fosfato) que podem ser manipuladas externamente.

A simulação de algumas situações clínicas e experimentais implicou a perturbação de parâmetros (por exemplo, a massa secretora paratiroideia na simulação do hipoparatiroidismo cirúrgico) como se se tratasse de variáveis extrínsecas.

Para evitar descontinuidades numéricas, os parâmetros ou as variáveis extrínsecas foram relaxados¹⁶ usando uma função em degrau (“step”) alisado exponencialmente com uma constante de tempo duas ordens de grandeza mais pequena do que a mais pequena constante de tempo de resposta do sistema.

A resposta dinâmica do modelo depende muito da escolha dos valores iniciais de referência e como se pode observar no Anexo IV existe um grande número de variáveis e parâmetros que tiveram de ser ajustados. Com o intuito de restringir arbitrariedades nas escolhas, foram adoptadas as seguintes regras:

Considerou-se que os espaços de distribuição do cálcio, fosfato, PTH e calcitriol são idênticos e correspondem ao espaço extracelular (14 litros). Na situação estacionária de controlo foram-lhe atribuídos os valores normais médios da Tabela dos Valores de Referência do tratado de endocrinologia de Williams (2). A quantidade de cálcio permutável do osso, a taxa de trocas de cálcio entre o espaço extracelular e o osso e a taxa da absorção e excreção de cálcio utilizadas são as indicadas por Parfitt (1). As afinidades dos diferentes processos em que participam as variáveis controladoras (PTH, calcitriol, cálcio extracelular) foram escolhidas de modo a, na situação controlo, fazerem com que o ponto operacional corresponda aos valores normais das concentrações extracelulares dessas variáveis. A única excepção a esta regra foi a do ponto operacional da inibição da secreção de PTH pelo cálcio extracelular que foi colocado muito abaixo da calcemia normal de modo a aumentar a fracção da gama dinâmica de resposta à hipocalcémia (1).

A absorção de cálcio no intestino foi modelada de acordo com os dados de Sheikh et al. (129). Considerou-se que a absorção passiva (difusional) representava 10% da absorção total. As constantes de degradação de PTH, calcitriol e 1-alfa-hidroxilase são as referidas por Parfitt (5) e Fraser (130) respectivamente. As taxas de renovação foram calculadas directamente multiplicando as concentrações pelas taxas de degradação.

¹⁶ Os verbos “relaxar” e “perturbar” são usados nesta tese para descrever as variações “introduzidas” em variáveis ou em parâmetros com o fim de estudar a resposta do sistema. Um exemplo é a simulação da injeção de cálcio na circulação. Neste caso a “relaxação” consistiu na “perturbação” (variação) da calcémia.

O modelo foi resolvido utilizando o software de aplicação Berkeley Madonna (www.berkeleymadonna.com) generosamente fornecido pelo Prof. Robert Macey.

Os valores basais (controlo ou normais) e as dimensões dos parâmetros e variáveis são dados no Anexo IV.

2.2 O MODELO MATEMÁTICO

O núcleo do modelo matemático é constituído por onze equações diferenciais não-lineares, em função do tempo, que correspondem aos onze compartimentos descritos e que traduzem o princípio da conservação aplicado às quantidades de cálcio ($Q_{Ca(s)}$), fosfato ($Q_{P(s)}$), PTH ($Q_{PTH(s)}$) e calcitriol ($Q_{DH(s)}$) no líquido extracelular, à quantidade de cálcio e fosfato permutáveis no osso ($Q_{Ca(o)}$, $Q_{P(o)}$), ao fosfato intracelular ($Q_{P(c)}$), à 1α -hidroxilase ($Q_{E(r)}$) no rim, à quantidade de transportadores de cálcio no intestino dependentes de calcitriol ($Q_{T_{Ca(i)}}$), à quantidade de transportadores de fosfato no rim dependentes do balanço externo ($Q_{TP(r)}$) e ao parênquima secretor das glândulas paratiroideias ($Q_{C(PT)}$).

Utilizaram-se as mesmas concentrações de cálcio, PTH e calcitriol no soro e no líquido extracelular. Utilizou-se a concentração de cálcio total dado ser essa a forma referida pela maioria dos artigos consultados.

O cálcio e o fosfato movem-se através do rim para a urina ($J_{Ca(su)}$, $J_{P(su)}$), através do intestino para o líquido extracelular ($J_{Ca(is)}$, $J_{P(is)}$), deste para o osso ($J_{Ca(so)}$, $J_{P(so)}$) e também em sentido oposto ($J_{Ca(os)}$, $J_{P(os)}$). A quantidade de cálcio intracelular é negligenciável mas a de fosfato não. Atendendo a este facto foram considerados os movimentos de fosfato do líquido extracelular para dentro das células ($J_{P(cs)}$) e em sentido oposto ($J_{P(sc)}$).

A PTH é produzida a uma taxa S_{PTH} que equivale a um fluxo da glândula para o CEC e degradada a uma taxa k_{PTH} . A 1α -hidroxilase ($Q_{E(r)}$) renal é produzida a uma taxa (S_E) sob o controlo da PTH e degrada-se a uma taxa k_E . O calcitriol é produzido no rim a uma taxa que pode ser expressa pela quantidade de 1α -hidroxilase renal ($Q_{E(r)}$) e degrada-se a uma taxa k_D . A fracção de transportadores activos intestinais ($Q_{T_{Ca(i)}}$) inactiva - se a uma taxa $k_{2,D'}$ enquanto a fracção de transportadores inactivos ($1 - Q_{T_{Ca(i)}}$) activa-se a uma taxa $k_{1,D'}$. A fracção de células secretoras de PTH ($Q_{C(PT)}$) inactiva - se a uma taxa $k_{4,D'}$ enquanto a fracção de células inactivas ($1 - (Q_{C(PT)})$) activa-se a uma taxa $k_{3,D'}$. Estas duas taxas estão sob o controlo da concentração de calcitriol no líquido extracelular.

As quantidades instantâneas nestes compartimentos resultam do somatório de todos estes fluxos. $d/dt (Q_{x(y)})$ é a derivada em ordem ao tempo da quantidade Q do componente x (cálcio, PTH, calcitriol, TCa – transportadores de cálcio, TP – transportadores de fosfato, C – massa secretora de células paratiroideias) no compartimento y (s – soro, c – célula, o – osso, r – rim, i – intestino, PT – paratiroideias).

$$d/dt (Q_{Ca(s)}) = J_{Ca(os)} - J_{Ca(so)} - J_{Ca(su)} + J_{Ca(is)}$$

$$d/dt (Q_{P(s)}) = J_{P(os)} - J_{P(so)} - J_{P(su)} + J_{P(is)} - J_{P(sc)} + J_{P(cs)}$$

$$d/dt (Q_{P(c)}) = J_{P(sc)} - J_{P(cs)}$$

$$d/dt (Q_{PTH(s)}) = S_{PTH} - k_{PTH} \cdot Q_{PTH(P)}$$

$$d/dt (Q_{Ca(o)}) = - J_{Ca(os)} + J_{Ca(so)}$$

$$d/dt (Q_{P(o)}) = - J_{P(os)} + J_{P(so)}$$

$$d/dt (Q_{E(r)}) = S_E - k_E \cdot Q_{E(r)}$$

$$d/dt (Q_{DH(s)}) = Q_{E(r)} - k_D \cdot Q_{D(s)}$$

$$d/dt (Q_{TCa(i)}) = (1 - Q_{TCa(i)}) \cdot k_{1,D}' - Q_{TCa(i)} \cdot k_{2,D}'$$

$$d/dt (Q_{C(PT)}) = (1 - Q_{C(PT)}) \cdot k_{3,D}' - Q_{C(PT)} \cdot k_{4,D}'$$

$$d/dt (Q_{TP(r)}) = (1 - Q_{TP(r)}) \cdot k_{1,P}' - Q_{TP(r)} \cdot k_{2,P}'$$

Utilizaram-se 4 tipos de função para traduzir as relações cinéticas entre as concentrações de um substrato (x) e os respectivos fluxos de transporte ou taxas de reacção (Y):

$$Y(x)_{1\pm} = Y(x)_{1\pm (Max)} \cdot \{a \cdot [1 \pm \text{TANH} (b \cdot (x - x_R))] + d\}$$

em que $Y(x)_{1\pm (Max)}$ corresponde à taxa máxima e $a+d=1$. O contradomínio da função representada entre [] está compreendido entre 0 e 2 ou entre 2 e 0 consoante se utiliza o sinal mais (activação) ou menos (inibição). x é a concentração instantânea do substrato e x_R é o valor de substrato em que $Y=1$ (ponto operacional). a é a fracção de Y que depende de x , considerada igual a 0,85 na situação controlo enquanto que b representa a fracção independente ($1-a=0,15$). b representa o declive da curva de Y em relação a x (sensibilidade) no ponto x_R (131). Nos casos de $Q_{TCa(i)}$, $Q_{C(PT)}$ e $Q_{TP(r)}$ a foi considerado ser 1. $k_{1,P}' (Y_r (Jext)_{1-})$ e $k_{2,P}' (Y_r (Jext)_{1+})$ são função do balanço externo ($Jext$) definido pela diferença instantânea entre as entradas de fosfato

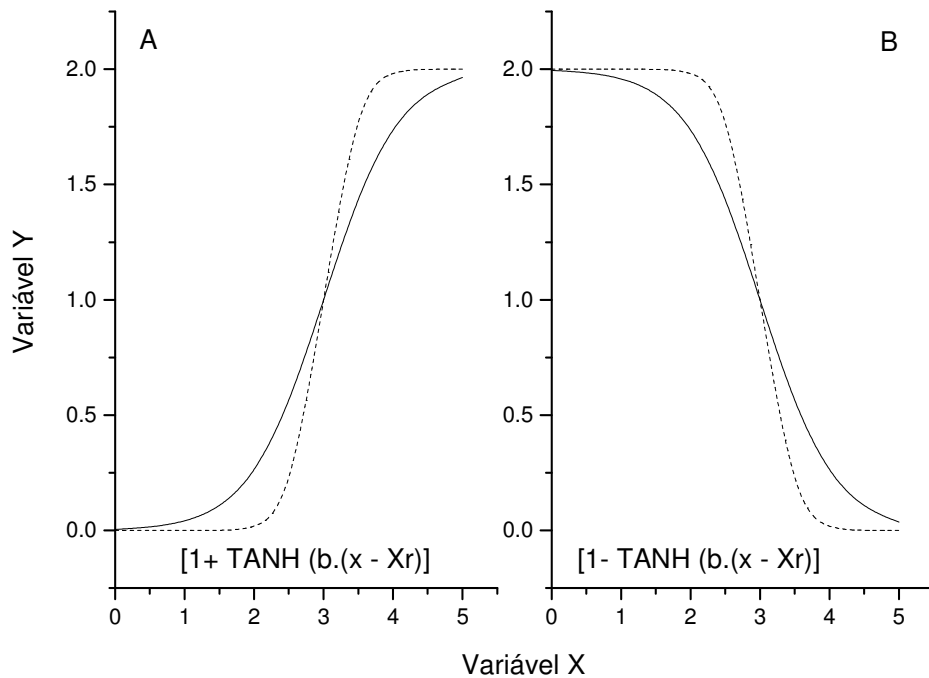


Figura 2.2.1 Representação gráfica das cinéticas de saturação em que uma fracção do processo (transporte, taxa de activação, etc.) não está sujeita a controlo. Eixo dos YY: intensidade (normalizada) do processo; eixo dos XX: concentração (normalizada) do factor controlador. O painel A representa duas cinéticas de activação para duas sensibilidades (b) diferentes ao activador. A curva de maior declive corresponde à maior sensibilidade. O painel B representa duas cinéticas de inactivação para duas sensibilidades (b) diferentes ao activador. As unidades dos eixos são adimensionais

($J_{P(is)}$) e a sua excreção urinária ($J_{P(su)}$). A Figura 2.2.1 descreve as curvas típicas desta função e o comportamento destas variando o parâmetro b .

$$2) Y(x)_{2+} = Y(x)_{2+(Max)} \cdot X / (X + X_R) \text{ or } Y(x)_{2-} = Y(x)_{2-(Max)} \cdot X_R / (X + X_R)$$

São funções cinéticas do tipo Michaelis-Menten (Figura 2.2.2) de reacções de primeira ordem representando dependência positiva ou negativa, respectivamente, de Y em função de x . X_R representa a afinidade e $Y_{2\pm (Max)}$ a velocidade máxima. As funções do tipo Y_1 e Y_2 foram utilizadas para estabelecer limites à gama dinâmica das variáveis. A maior parte das simulações foi realizada utilizando a parte quasi-linear destas funções.

$$3) Y_3(x) = k \cdot x$$

Representa uma equação cinética linear (não-saturável) em que k é a taxa de reacção e x pode ser uma concentração ou outra quantidade. Estas

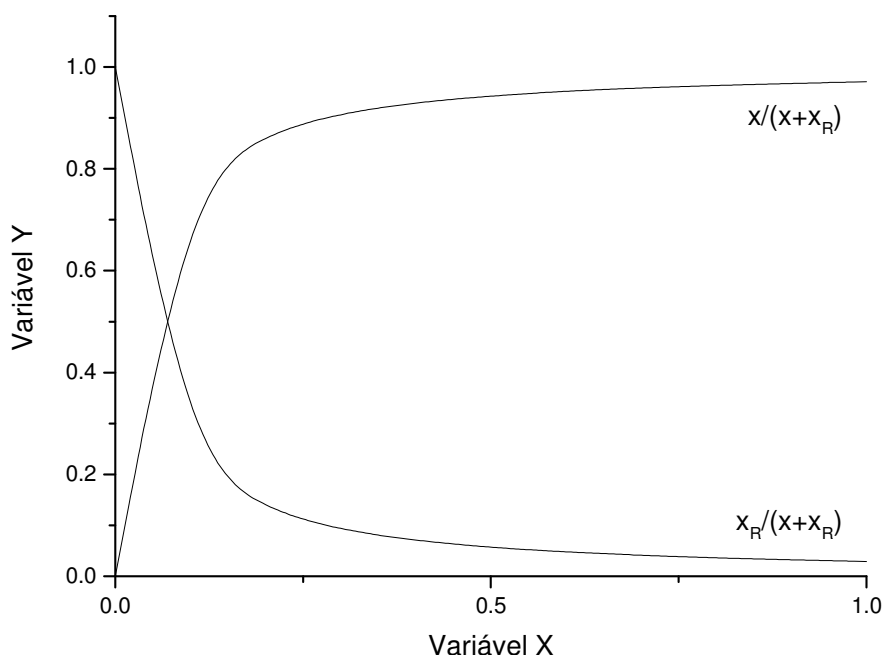


Figura 2.2.2 Representação gráfica das cinéticas de saturação (de activação e de inibição) tipo Michaelis-Menten. A escolha dos eixos obedeceu às mesmas convenções da Figura 2.2.1.

equações foram utilizadas para calcular a degradação de PTH, calcitriol e 1α -hidroxilase. Equações deste tipo foram também utilizadas para calcular os fluxos intestinais de cálcio ($k_{Ca(i)}$) e de fosfato ($k_{P(i)}$) em que k representa uma permeabilidade efectiva.

$$4) Y_4(x) = x \cdot f(x_T)$$

$Y_4(x)$ representa a calciúria ($x = Ca$) ou fosfaturia ($x = P$), x_T é o quociente entre o limiar renal do cálcio (Ca_L) e a concentração de cálcio no líquido extracelular ($Ca_{(s)}$) ou o quociente entre o limiar renal de fosfato (P_L) e a sua concentração extracelular ($P_{(s)}$). A função $f(x_T)$ foi inicialmente proposta por Walton & Bijvoet (46) como uma descrição normalizada da relação entre a fosfatúria e a fosfatémia. $f(x_T)$ representa uma equação polinomial de segundo grau com coeficientes A_Z , B_Z e C_Z em que Z é o cálcio (Ca) ou fosfato (P).

Como atrás se descreveu quando se fazem gráficos que relacionam a fosfatúria ou a calciúria (Figura 2.2.3) com a fosforémia ou a calcémia obtêm-se curvas em que:

para valores baixos da calcémia ou da fosforémia a excreção urinária aproxima – se assintoticamente de zero ao passo que para valores elevados tem um comportamento linear (indicado pela recta a tracejado). Este comportamento explica – se admitindo que existem dois processos em presença, ambos presentes a baixas concentrações, inferiores ao ponto em que a curva inflecte para cima. Um desses processos satura e permanece constante acima do ponto de inflecção. O segundo cresce linearmente com a concentração sérica. A excreção acima do ponto de inflecção é inferior à carga tubular. Tivemos a oportunidade de derivar uma descrição analítica simplificada das relações entre concentração sérica (Cs) e excreção urinária (FSU) dada

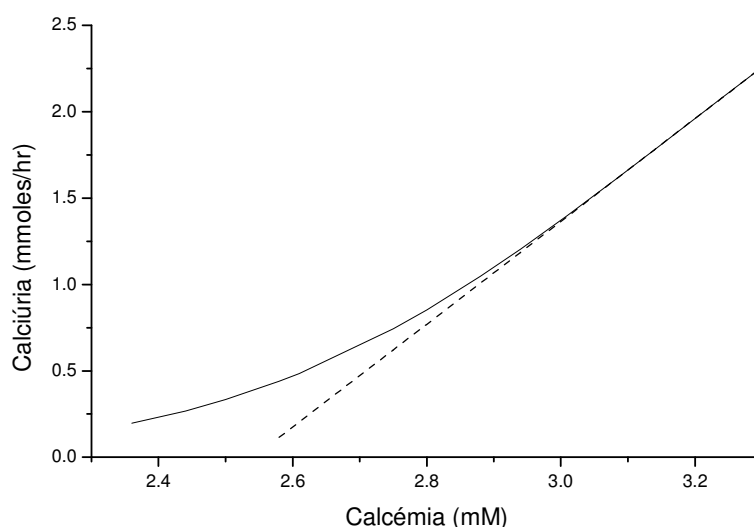


Figura 2.2.3 Representação gráfica das relações entre calcémia (ou fosforémia) - eixo dos XX, e calciúria (fosfatúria), eixo dos YY. A parte linear da curva corresponde à situação em que a reabsorção tubular facilitada está saturada mas em que existe reabsorção proporcional à carga tubular. O declive desta recta é diferente para o cálcio e para o fósforo. À sua intercepção com o eixo dos XX dá-se o nome de Transporte Tubular Máximo, abreviado Tm. A porção não linear da curva corresponde à situação em que o transporte mediado não está saturado.

pela expressão

$$CS \cdot FG - \beta \cdot CS \cdot FG - T_m \cdot FSU / (FSU + K_u) - FSU = 0$$

Em que Tm é a taxa máxima de reabsorção para o processo saturável, K_U é a afinidade deste processo e α é a função da carga tubular absorvida na zona linear.

Seguindo a estratégia preconizada por *Bijvoet e col. (71)* para o fósforo fizemos o assentamento de uma expressão analítica simples ($Y_4(x) = x \cdot f(x_T)$) sobre dados publicados (55) em que

Y é a excreção urinária (mmoles/hr)

x é o cociente limiar($CCaT$)/concentração sérica $[Ca]_s$

$f()$ é $A \cdot (B - x^C)$

sendo A , B e C parâmetros obtidos a partir do assentamento sobre dados experimentais.

A estratégia de cálculo utilizada para a resolução do modelo foi a descrita por *Lew et al. (132)*. O sistema é resolvido primeiro para o estado estacionário de referência (controlo). Deste modo é possível testar a sua estabilidade antes de introduzir perturbações.

Para calcular este estado inicial consideram-se que as derivadas, no período controlo, são nulas. As equações simultâneas resultantes são então resolvidas depois de se substituírem os valores iniciais das variáveis e de alguns parâmetros nas funções respectivas.

Os fluxos ($J_{ab(x)}$) do componente x do compartimento a para o b e a taxa de secreção (taxa S_{PTH} de secreção de PTH) são descritas do seguinte modo:

$$J_{Ca(os)} = Y(D_{(s)})_{2+} \cdot Y(Q_{Ca(o)})_{2+} \cdot Y(PTH_{(s)})_{1+}$$

$$J_{Ca(so)} = k_{Ca(o)} \cdot Q_{Ca(s)}$$

$$J_{P(os)} = Esteq_{(Ca/P)} \cdot J_{Ca(os)}$$

$$J_{P(so)} = Esteq_{(Ca/P)} \cdot J_{Ca(so)}$$

$$J_{Ca(su)} = Y(D_{(s)})_{2+} \cdot Y(Ca_{(s)})_{2-} \cdot Xf(Ca_T)$$

$$J_{P(su)} = Xf(P_T)$$

$$J_{Ca(is)} = Y(Ca_{(i)})_{2+} \cdot (1 - Q_{TCa(i)}) \cdot k_{1,D'} - Q_{TCa(i)} \cdot k_{2,D'} + k_{Ca(i)} \cdot (C_{Ca(i)} - C_{Ca(s)})$$

$$J_{P(is)} = J_{P(ing)}$$

$$S_{PTH} = Y(Ca_{(s)})_{1-} \cdot [k_{3,D'} \cdot (1 - Q_{C(PT)}) - k_{4,D'} \cdot Q_{C(PT)}]$$

$$J_{P(sc)} = k_{4,p} \cdot C_{P(s)}$$

$$J_{P(cs)} = k_{3,p} \cdot Q_{P(c)}$$

Para descrição dos símbolos ver descrição dos tipos de cinéticas.

A absorção de fosfato através do intestino ($J_{P(is)}$) foi considerada como sendo igual à ingestão de fosfato ($J_{P(ing)}$) o que é equivalente a considerar que $J_{P(ing)}$ é 0.7 do valor controlo. Este dado está de acordo com a observação de que 70% do fosfato ingerido é absorvido variando esta ingestão entre 25 e 110 mg por hora (33). Os movimentos de fosfato para o osso ($J_{P(so)}$) e para fora deste ($J_{P(os)}$) estão intimamente ligados aos movimentos de cálcio ($J_{Ca(so)}$ e $J_{Ca(os)}$, respectivamente) pela relação estequiométrica ($Esteq_{(Ca/P)}$) de 0,464 que é o quociente entre P/Ca na hidroxiapatite.

As equações auxiliares seguintes foram utilizadas para calcular as variáveis e parâmetros definidos acima:

$$Ca_L = 1.95 + Y(PTH_{(s)})_{2+}$$

$$Ca_T = Ca_L / C_{Ca(s)}$$

$$P_L = Y(PTH_{(s)})_{2-} \cdot Q_{TP(r)}$$

$$P_T = P_L / C_{P(s)}$$

$$k_{1,D'} = Y_i(D_{(s)})_{1+}$$

$$k_{2,D'} = Y_i(D_{(s)})_{1-}$$

$$k_{3,D'} = Y_{PT}(D_{(s)})_{1+}$$

$$k_{4,D'} = Y_{PT}(D_{(s)})_{1-}$$

$$k_{1,p'} = Y_r(J_{ext})_{1+}$$

Utilizaram-se as concentrações totais de cálcio porque a quase totalidade dos artigos consultados usou a mesma convenção. Muitos dos dados colhidos na literatura foram publicados em forma gráfica e usando unidades muito diferentes. Nesses casos procedeu-se a digitalização dos gráficos a partir de reproduções obtidas por varrimento dos originais. Os dados numéricos obtidos directamente ou por esta técnica foram depois convertidos para as unidades adoptadas neste modelo.

2.3 ESTIMATIVA DA TAXA DE DEGRADAÇÃO DA PTH

Para estimar k_{PTH} foram utilizados dados colhidos em doentes com o diagnóstico de hiperparatiroidismo primário. Em 15 doentes operados foram feitas colheitas para doseamento de PTH imediatamente antes da cirurgia e 5', 10', 20', 30' e 60' depois do isolamento do(s) adenoma(s).

Se $Q_{PTH(CEC)}$ for a quantidade total de PTH no CEC podemos escrever que

$$d/dt(Q_{PTH(CEC)}) = J_{PTH(sect)} - k_{PTH} * Q_{PTH(CEC)}$$

em que

$J_{PTH(sect)}$ é a taxa de secreção de PTH

e

k_{PTH} a taxa de degradação da hormona.

Quando as glândulas paratiroideias são removidas

$$J_{PTH(sect)} = 0$$

ou seja

$$d/dt(Q_{PTH(CEC)}) = - k_{PTH} * Q_{PTH(CEC)}$$

A solução desta equação diferencial é

$$Q_{PTH(CEC)} = Q_{PTH(CEC)0} * \exp(- k_{PTH} * t)$$

em que

$Q_{PTH(s)0}$ é a quantidade de PTH no CEC imediatamente antes da remoção.

Para se obterem os valores de k_{PTH} para os diferentes doentes fizeram-se gráficos das concentrações séricas de PTH em função do tempo para cada doente. Verificou-se que em todos os casos havia uma concentração residual de PTH aos 60 minutos, variável de caso para caso. Dado que os valores de k_{PTH} que permitiam um assentamento da exponencial para todos os pontos antes dos 60 minutos eram da ordem de 0.13 min^{-1} pode ver-se, substituindo este valor na exponencial acima, que ao fim de 60 minutos era de esperar que a quantidade de PTH no CEC tivesse baixado para $= 0.00004$ do valor inicial, muito abaixo dos valores medidos (0.11 ± 0.043). O significado deste valor residual não é claro. Pode significar que o desaparecimento da PTH se faz seguindo duas exponenciais.

Decidimos calcular as taxas de degradação correspondentes à primeira exponencial o que significa ajustar as curvas a uma função da forma

$$Q_{PTH(CEC)} = Q_{PTH(CEC)0} * \exp(- k_{PTH} * t) + Q_{PTH(CEC)\infty}$$

em que $Q_{PTH(CEC)\infty}$ é o valor de $Q_{PTH(CEC)}$ ao fim de 60 minutos ligeiramente ajustado de modo a satisfazer o assentamento da exponencial. A partir das taxas individuais calcularam-se a média e o erro padrão que foram respectivamente 0.135 ± 0.0028 a que corresponde uma constante de tempo

de 7.4 minutos equivalente a uma vida média de 5.14 minutos semelhante aos valores (2 – 4) encontrados por Brasier e al. (133).

Da equação anterior e para $t = 0$ obtêm –se

$$Q_{PTH(CEC)0-} = Q_{PTH(CEC)0} + Q_{PTH(CEC)\infty}$$

em que $Q_{PTH(CEC)0-}$ é o valor do quantidade de PTH no CEC imediatamente antes da intervenção. Portanto

$$Q_{PTH(CEC)} = (Q_{PTH(CEC)0-} - Q_{PTH(CEC)\infty}) \cdot \exp(-k_{PTH} \cdot t) + Q_{PTH(CEC)\infty}$$

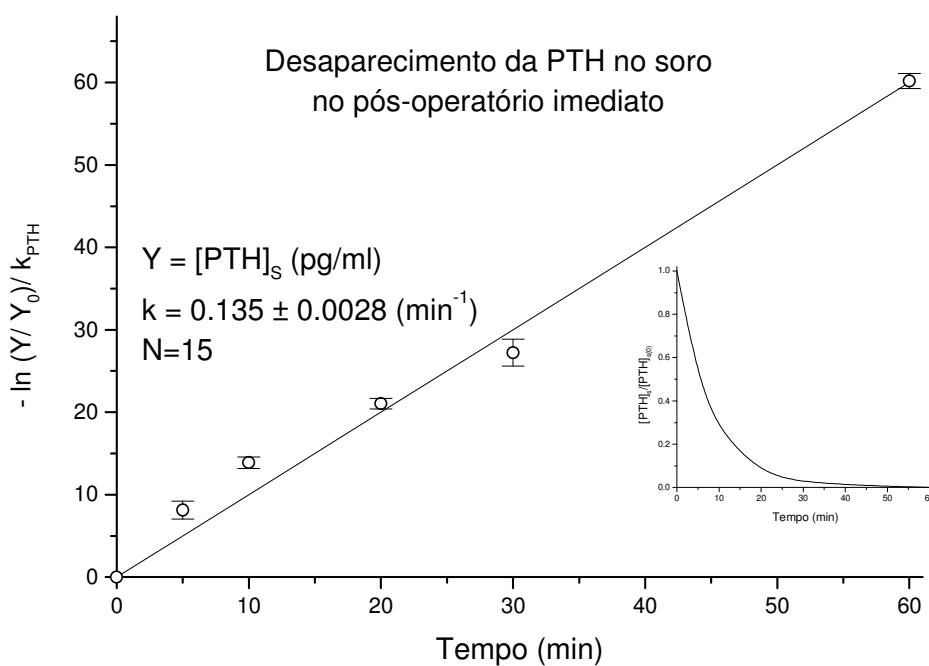


Figura 2.3.1 Representação linearizada do desaparecimento de PTH do sangue a seguir à paratireoidectomia. Figura inserida: curva de desaparecimento da PTH num doente. Para mais detalhes ver texto.

rearranjando

$$Q_{PTH(CEC)} - Q_{PTH(CEC)\infty} = (Q_{PTH(CEC)0-} - Q_{PTH(CEC)\infty}) \cdot \exp(-k_{PTH} \cdot t)$$

ou

$$[(Q_{PTH(CEC)} - Q_{PTH(CEC)\infty}) / (Q_{PTH(CEC)0-} - Q_{PTH(CEC)\infty})] = \exp(-k_{PTH} \cdot t)$$

ou se

$$Y = (Q_{PTH(CEC)} - Q_{PTH(CEC)\infty}) \text{ e } Y_0 = (Q_{PTH(CEC)0-} - Q_{PTH(CEC)\infty})$$

então

$$\ln\{[(Q_{PTH(CEC)} - Q_{PTH(CEC)\infty}) / (Q_{PTH(CEC)0-} - Q_{PTH(CEC)\infty})]\} / k_{PTH} = t$$

Na Figura 2.3.1 inseriu – se um gráfico que descreve o desaparecimento da PTH do CEC em função do tempo como fracção do valor inicial a uma taxa de 0.135 min^{-1} .

Correlação e coeficiente de correlação

Na análise dos dados laboratoriais dos doentes do Serviço de Endocrinologia do IPO foram utilizadas técnicas estatísticas (ver Figuras 3.2.13 e 3.2.14) para detectar relações entre variáveis observáveis. As estatísticas usadas foram a correlação linear e o coeficiente de correlação (134). Não foi escolhido qualquer nível de significância porque as estatísticas foram usadas como meio simples de detectar tendências semi-quantitativamente.

CAPÍTULO III – RESULTADOS

3.1 SIMULAÇÕES

A construção de modelos matemáticos permite simular um vasto leque de situações desde o assentamento de curvas simuladas sobre dados experimentais até à simulação de experiências não realizáveis em seres humanos pelos riscos ou custos inerentes ou por impossibilidade prática.

Um critério liminar para a validação dos modelos consiste em poder ajustar as suas respostas a curvas experimentais. Idealmente um conjunto único de valores dos parâmetros do modelo deveria satisfazer *todas* as simulações de situações experimentais.

Na realidade isso nunca acontece por várias razões.

A síntese do modelo de um sistema complexo assenta em simplificações consideráveis. Isso acontece tanto na biologia humana como nas ciências exactas. A circulação do sangue obedece seguramente às leis da hidráulica. A vasta experiência acumulada na área (135) demonstra que assim é. No entanto não é possível a partir destas leis produzir um modelo aplicável à circulação de qualquer indivíduo. Esta impossibilidade não implica que seja impraticável aplicar os conceitos (modelos) da hidráulica à interpretação (genérica) dos fenómenos circulatórios na saúde e na doença.

Em geral as relações funcionais dos sistemas fisiológicos humanos são inferidas a partir de experiências com animais ou com órgãos isolados. Esta estratégia experimental cuja defesa se deveu em primeiro lugar a Claude Bernard no século XIX permitiu muitos avanços nos conhecimentos de fisiologia e continua a ser usada nos nossos dias. Isto não significa que se possam fazer extrapolações quantitativas de estudos em animais ou em órgãos isolados para o ser humano. No desenho do modelo aqui apresentado as extrapolações feitas foram escolhidas ou por corresponderem genericamente às observações em sistemas isolados ou pela sua plausibilidade à luz do que se conhece sobre processos biológicos. Em cada caso houve a preocupação em escolher a opção mais simples que satisfazia o comportamento global do modelo. Um bom exemplo é o da cinética da acção inibidora do cálcio sobre a secreção de PTH que se escolheu de modo a haver uma fracção da secreção insensível ao cálcio, uma concentração de cálcio acima da qual a glândula

deixa de responder e uma gama intermédia de concentrações em que a glândula responde. A função analítica escolhida que é arbitrária tem a vantagem de depender explicitamente dos quatro parâmetros da resposta mais acessíveis à intuição: taxa de secreção insensível a cálcio, taxa de secreção máxima, concentração correspondente à secreção a meio da gama dinâmica de concentrações e a sensibilidade da paratiroideia ao cálcio nesse ponto. Apesar de lógicas estas simplificações não deixam de ser compromissos que podem ter consequências mais importantes em certas situações do que noutras.

Os sistemas biológicos são auto - adaptativos ou seja têm um comportamento que não é independente da sua história pregressa. Quando um sistema biológico é sujeito a perturbações externas (noxas ambientais) ou internas (secreções inapropriadas de hormonas) mantidas ao longo do tempo vai reagindo (vai – se adaptando) ao longo do tempo de acordo com as constantes de tempo de resposta dos diferentes órgãos. Isto significa que a própria estrutura funcional (os parâmetros) do sistema muda. Ou seja se introduzíssemos repetidamente, ao longo do tempo, a mesma perturbação aguda obteríamos respostas diferentes.

No estado actual dos conhecimentos da regulação da calcemia não são conhecidos os valores numéricos dos parâmetros do sistema “in situ” (a afinidade e a sensibilidade dos receptores para os respectivos ligandos, as taxas máximas e mínimas de produção de PTH e calcitriol, os valores normais das taxas de degradação das diferentes moléculas com importância funcional no sistema, etc). Daí que no modelo exista uma primeira fase em que a partir do conhecimento de grandezas mensuráveis se faça uma dedução dos valores dos parâmetros. Estes cálculos são obviamente influenciados pela dispersão normal dos valores dessas grandezas, factor que se analisa a seguir.

Os valores das variáveis do nosso modelo - concentrações plasmáticas de cálcio, PTH e calcitriol medidas em indivíduos normais - exibem considerável dispersão. Essas populações de valores estão representadas pelas respectivas médias e desvios padrões . Os valores médios foram usados para o ajuste do modelo. Por outras palavras o modelo representa um indivíduo hipotético, a que chamaremos referência ou “indivíduo virtual”, cujas

concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol são os valores médios respectivos numa população normal. Isso não significa que a maioria dos indivíduos normais exiba concentrações plasmáticas de cálcio, PTH e calcitriol que sejam simultaneamente as concentrações médias encontradas numa população normal. Trata-se de um problema a estudar através da análise de bases de dados.

Como o modelo que usámos se destina à descrição da resposta dinâmica (em função do tempo) da homeostase do cálcio, um critério da sua validação consiste na simulação de perturbações agudas de que são exemplos as respostas a infusões de cálcio, PTH, calcitriol ou de drogas que estimulam ou inibem componentes do sistema. Outro exemplo é a remoção cirúrgica das glândulas paratiroideias que, do ponto de vista matemático, é equivalente a uma *infusão negativa* de PTH. A injeção na circulação de quelantes de cálcio é outro exemplo de infusão negativa.

As perturbações agudas são importantes porque permitem excluir as respostas dos componentes mais lentos do sistema (que ainda não reagiram) e são a única maneira de ajustar as suas constantes de tempo mais pequenas. É outra vantagem adicional o facto de os protocolos experimentais serem mais simples nas experiências agudas uma vez que se produz, em regra, apenas uma perturbação (variação súbita da concentração de cálcio, por exemplo) e que é razoável atribuir o comportamento do sistema no período que se segue imediatamente a uma resposta directa a essa perturbação. Finalmente é habitual que as provas diagnósticas consistam em perturbações agudas.

Estão descritas várias doenças do metabolismo fosfo - cálcico com fisiopatologia geralmente aceite. Estas descrições dependem dos conhecimentos que existem em cada momento e consequentemente é plausível que à medida que se conhecem mais componentes do sistema e que aparecem mais ferramentas diagnósticas se levantem mais hipóteses patogénicas. A complexidade que já se conhece do sistema dificulta consideravelmente a análise de eventuais mecanismos fisiopatológicos. O assentamento das respostas do modelo a curvas experimentais após modificações na sua estrutura (nos valores dos seus parâmetros) permite ensaiar hipóteses fisiopatológicas.

Parte das simulações que serão apresentadas exemplificam este tipo de utilização.

É possível fazer dois grandes grupos de simulações.

1. altera – se a estrutura (os parâmetros) do modelo, ou seja o seu estado de referência e a seguir sujeita-se a perturbações. Podemos conceber o caso dum indivíduo com uma anomalia congénita na regulação da calcemia que se encontra em estado estacionário e no qual vamos efectuar experiências – infusões de cálcio, PTH ou calcitriol. Na literatura há experiências clínicas deste tipo.
2. num indivíduo descrito pelo estado de referência “normal” vamos introduzir perturbações. Simulações deste tipo originam –se em perguntas como: “ qual a importância da inibição da secreção de PTH pelo calcitriol circulante?”

A escolha de uma ou outra estratégia será ditada pelo tipo de pergunta feita à partida.

3.1.1 EXPERIÊNCIAS AGUDAS

Experiências agudas em pessoas saudáveis permitem verificar a eficácia da regulação a curto prazo (minutos a dias). Nesta secção são descritas simulações de experiências em que as perturbações criadas ou o intervalo de observação decorre entre 1 e 96 horas. Escolheram-se experiências em que são analisadas as variáveis mais frequentemente observadas na prática clínica (concentrações séricas de cálcio, fósforo, PTH, calcitriol, e excreção urinária de cálcio e fósforo). Para cada simulação foram colhidos os dados publicados na literatura. A seguir procedeu-se a uma simulação das perturbações e manipularam-se parâmetros até se conseguirem assentar as curvas geradas sobre os dados experimentais.

3.1.1.1 HIPOPARATIROIDISMO CIRÚRGICO (BOURREL C ET AL.(136))

As hipocalcémias são complicações associadas à cirurgia da tiroideia. Consideram-se transitórias se se observam até 2 meses após a cirurgia ou

permanentes se se mantêm para além daquele período. Ocorrem mais frequentemente no decurso de tiroidectomias totais (transitórias: 6.9-25%; definitivas 0.4-13.8%) do que em tiroidectomias sub - totais (transitórias: 1.6-9.1%; definitivas: 0.2-1.9%).

As hipocalcémias definitivas devem-se a necrose de causa vascular e/ou remoção accidental das glândulas paratiroideias. Na etiologia das hipocalcémias transitórias foi apontada como causa possível e independente da remoção cirúrgica de tecido glandular a existência de alterações na vascularização das glândulas paratiroideias.

Bourrell et al. (136) estudaram estas hipocalcémias em 95 doentes submetidos a diversos tipos de cirurgia (tiroidectomia total, tiroidectomia sub - total e lobectomias) por diferentes patologias. Mediram as concentrações séricas de cálcio e PTH imediatamente antes da cirurgia e às 6, 24, 48, 72 e 96 horas do pós-operatório.

Para simular esta situação foi introduzida uma perturbação na secreção de PTH equivalente a uma diminuição de 25% da capacidade secretora.

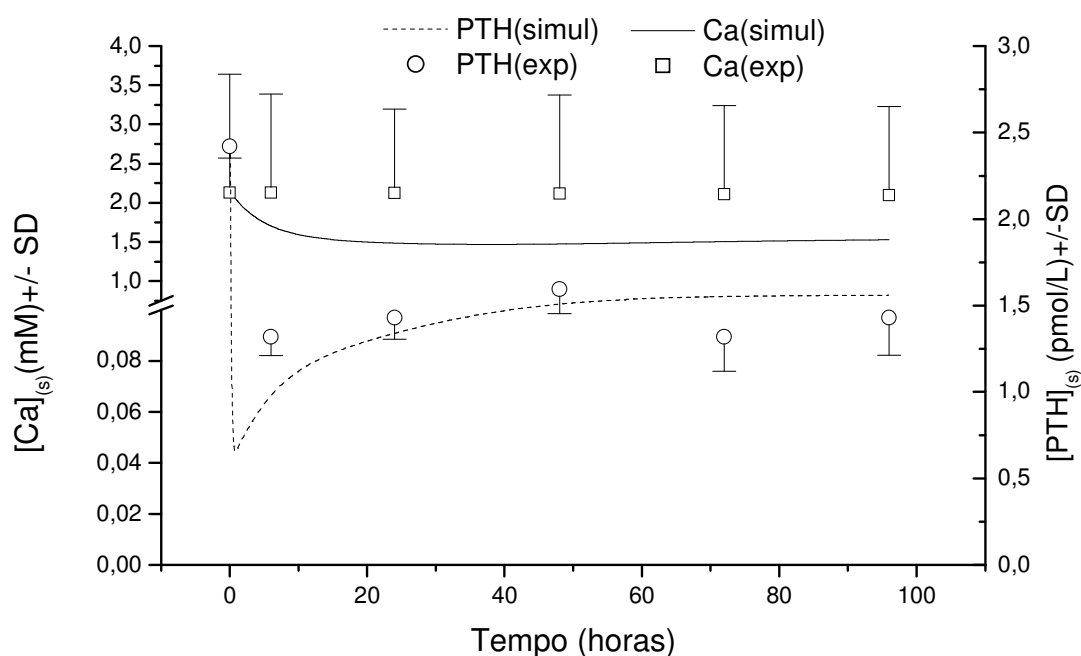


Figura 3.1.1.1 Representação das concentrações séricas (médias e respectivos desvios padrão) de cálcio e PTH (quadrados e círculos abertos) num grupo de doentes tiroidectomizados (136). Linhas: simulação com o modelo. Ajuste de parâmetros: ver Anexo IV.

Utilizaram-se valores iniciais de PTH e de cálcio iguais aos dos autores (ver anexo V).

Na Figura 3.1.1.1 mostram-se os valores médios medidos (e respectivos desvios-padrão) e calculados. Não foi possível reproduzir os dados experimentais.

Os valores médios (medidos) da calcemia não desceram significativamente apesar da descida dos valores de PTH o que contraria uma das relações básicas do modelo: a relação cálcio - PTH. A utilização de médias calculadas a partir de uma população em que os valores absolutos das concentrações circulantes de cálcio exibem grande dispersão encobriu muito provavelmente um padrão que ocorreu na maioria dos indivíduos. A construção de gráficos a partir de valores expressos como fracção do valor pré – operatório talvez permitisse revelar esse padrão.

3.1.1.2 AVALIAÇÃO DE EXCREÇÃO URINÁRIA DE CÁLCIO (ATTIE ET AL (137))

A quantificação do papel do rim na excreção urinária de cálcio põe dificuldades práticas. Há uma regulação dependente e outra independente da PTH sendo difícil na prática clínica conhecer qual a importância relativa de cada um destes processos.

Attie et al. (137) pretenderam estudar a excreção urinária de cálcio independente de PTH. Para tal, efectuaram uma infusão de cloreto de cálcio em 3 doentes com hipoparatiroidismo cirúrgico que estavam compensados com terapêutica oral com suplementos de cálcio e calcitriol. Foram utilizadas 2 taxas de infusão (75-100 μeq cálcio/Kg'h e 100-160 μeq cálcio/Kg'h) sendo avaliadas as concentrações séricas de cálcio e a excreção urinária de cálcio após estabilização dos valores da calcemia para cada infusão. Não são referidos claramente no artigo os tempos das infusões e intervalos das colheitas.

A simulação desta experiência obrigou à introdução de diversas perturbações de modo a reproduzir o exemplo prático (Anexo V). A 1ª perturbação foi a da simulação do hipoparatiroidismo cirúrgico diminuindo-se em 90% a secreção de PTH. A compensação da hipocalcémia através da

introdução de suplementos de cálcio e calcitriol foi simulada pela introdução de 2 perturbações equivalentes a um aumento na produção de calcitriol e na quantidade de cálcio no soro. Após ter sido atingido o estado estacionário foi introduzida uma última perturbação equivalente à infusão de cálcio (novamente através de um aumento do cálcio no soro). Foram avaliados os valores de cálcio no sangue e da sua excreção urinária.

Na Figura 3.1.1.2 são apresentados os resultados experimentais obtidos por Attie (137), os resultados da simulação e os dados de Peacock et al. (55). (que foram utilizados na construção do modelo por fornecerem a relação calcémia - calciúria).

Foi possível obter um bom assentamento da curva simulada sobre os dados experimentais. Há no entanto a ter em conta o facto de os tempos não estarem definidos no artigo original pelo que o assentamento pode ser espúrio.

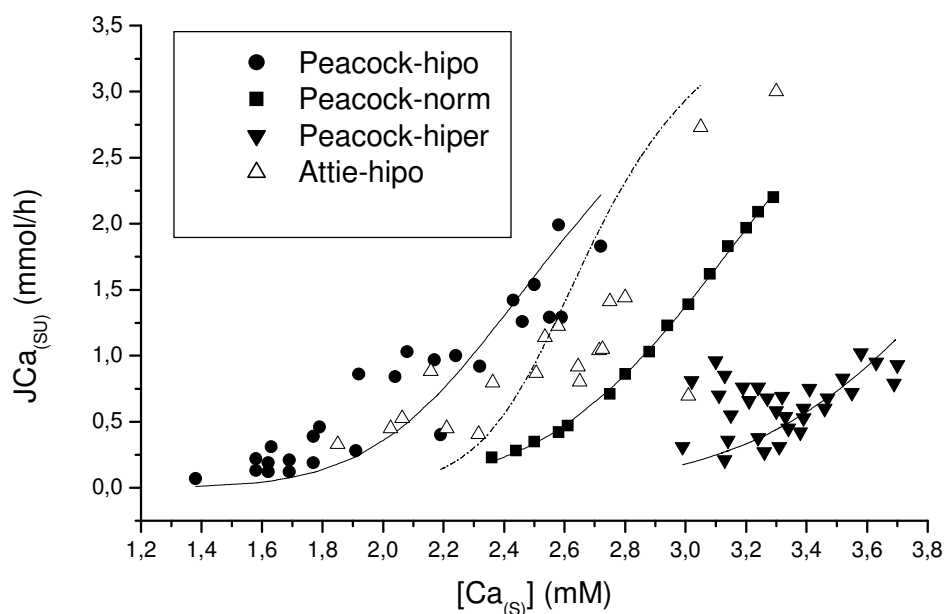


Figura 3.1.1.2 Representação da relação calcémia / calciúria. Símbolos a preto: dados de Peacock et. al (55). triângulos abertos: dados de Attie et al. (137). Linhas contínuas: representação da equação usada no modelo para três valores da PTH sérica. linha descontinua: valores calculados pelo modelo para um indivíduo com hipoparatiroidismo sujeito a uma infusão de cálcio durante 4 horas.

3.1.1.3 CONTROLO EXPERIMENTAL DAS CALCÉMIAS

A secreção de PTH está dependente da concentração de cálcio no sangue através da interacção deste ião com uma proteína de membrana: o receptor/sensor de cálcio. Estudos desta relação foram efectuados por diferentes autores. Utilizámos os dados de *Brown et al. (57)* na construção do nosso modelo.

Através de infusões *Schmitt et al. (138)* fixaram as concentrações de cálcio acima e abaixo do normal de modo a avaliarem o efeito de alterações agudas da calcemia na secreção de PTH. As experiências foram realizadas em 7 voluntários saudáveis, utilizando-se gluconato de cálcio para a hipercalcémia e infusões de citrato de sódio para a hipocalcémia. Após um período de avaliação basal de 75 minutos iniciavam-se as infusões com o objectivo de se atingirem calcémias superiores ou inferiores aos valores basais em 0.8 mg/dL (0.2 mmol/L). Este objectivo foi atingido em 30 minutos mantendo-se depois as calcémias constantes mais 75 minutos. As concentrações de PTH e cálcio foram avaliadas a intervalos de 5 minutos durante os períodos de hipo e hipercalcémia.

Para a simulação da hipercalcémia além de terem sido considerados os valores basais de calcémia e de PTH indicados pelos autores (e portanto respectivas referências no modelo) foi criada uma primeira perturbação equivalente à infusão de cálcio para se atingir a hipercalcémia e uma segunda perturbação equivalente a uma infusão negativa de cálcio (sobreposta à primeira) para simular a experiência original. Os parâmetros utilizados estão indicados no Anexo V.

A simulação da hipocalcémia obrigou à adição de um componente que reproduzisse o pulso precoce de secreção de PTH de resposta à hipocalcémia. O estudo de transitórios de tão curta duração não estava contemplado na versão original do modelo e, excluindo esta simulação, não houve necessidade de utilizar de novo esta função. Os parâmetros alterados estão indicados no Anexo V.

Os resultados estão apresentados nos painéis A e B da Figura 3.1.1.3 junto com as nossas simulações. As curvas calculadas ajustaram-se bem aos dados experimentais.

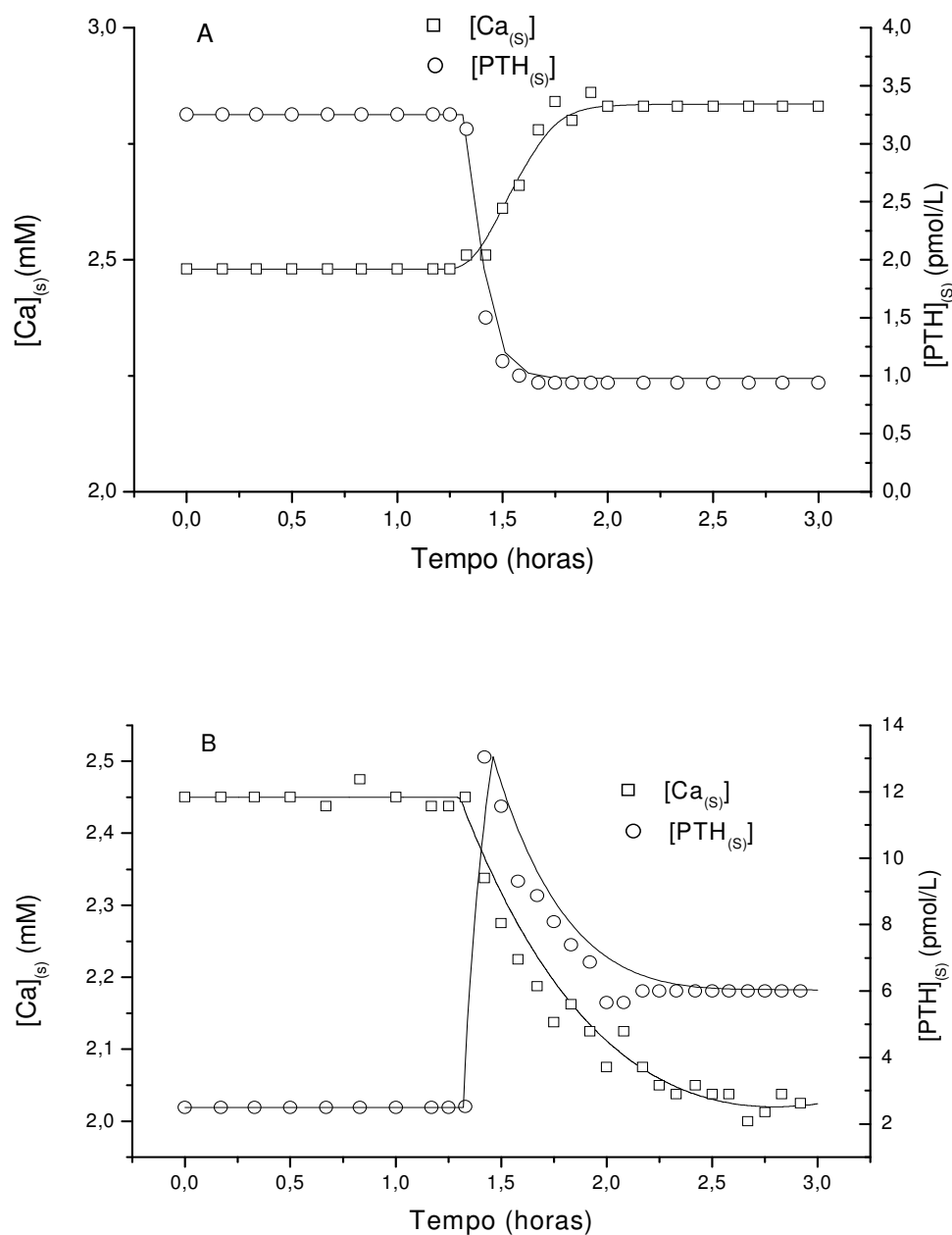


Figura 3.1.1.3 Representação do curso temporal das concentrações (médias) séricas de cálcio (quadrados) e PTH (círculos) antes e imediatamente após uma infusão positiva (painel A) ou negativa (painel B) de cálcio (modificado de 138). Linhas: assentamento do modelo. Dado o bom assentamento das curvas não se incluíram os desvios padrões.

3.1.1.4 INFUSÕES DE CÁLCIO (GOODMAN ET AL. (139))

Goodman e colaboradores (139) utilizaram testes dinâmicos para estudar a função das glândulas paratiroideias. Para tal fizeram infusões de cálcio e mediram concentrações de PTH e de cálcio no soro ao longo de duas horas. Foram estudados 20 voluntários com função renal normal e sem história de doenças crónicas ou de doença óssea metabólica.

Após um período inicial em que se fizeram doseamentos basais foi efectuada uma infusão endovenosa de gluconato de cálcio a 10% durante 2 horas. O objectivo foi o de atingir uma calcemia pelo menos 0.8 mg/dL (0.2 mmol/L) superior ao valor basal. Foram utilizadas sobrecargas de gluconato de cálcio variando entre 0.6 – 2.4 mmoles/hora. As colheitas para doseamentos de PTH e de cálcio ionizado foram efectuadas a intervalos de 10 minutos.

A perturbação criada no modelo correspondeu a uma infusão de cálcio, i.e, adicionou-se uma quantidade de cálcio fixa ao balanço instantâneo de cálcio sérico. Os parâmetros utilizados são os referidos no Anexo V. Os resultados experimentais e os da simulação são apresentados na Figura 3.1.1.4. Também aqui houve um bom ajustamento das curvas simuladas aos valores experimentais.

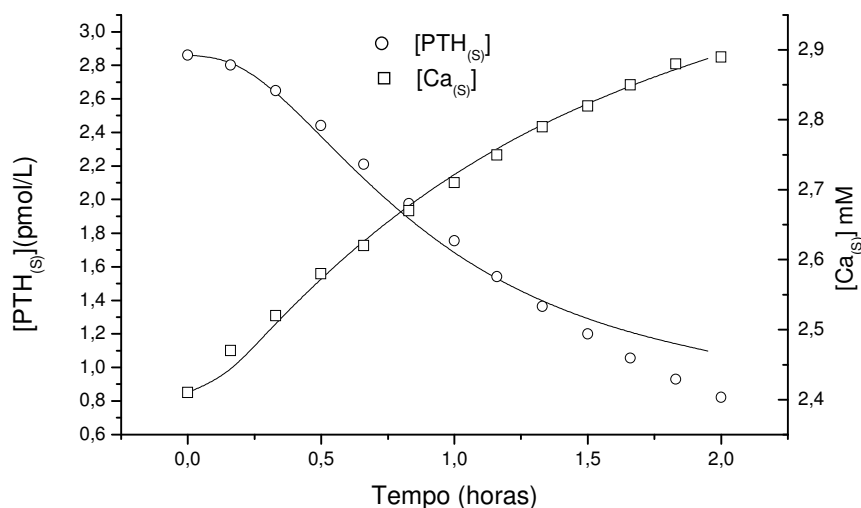


Figura 3.1.1.4 Representação do curso temporal das concentrações (médias) séricas de cálcio (quadrados) e PTH (círculos) antes e imediatamente após uma infusão positiva (modificado de 139) de cálcio. Linhas: assentamento do modelo. Dado o bom assentamento das curvas não se incluíram os desvios padrões.

3.1.1.5 INFUSÕES DE CÁLCIO EM INDIVÍDUOS NORMAIS E EM DOENTES COM HIPERCALCÉMIA HIPOCALCIÚRICA FAMILIAR (HHF)¹⁷ (KHOSLA ET AL. (96))

Com o objectivo de estudarem as alterações da função das glândulas paratiroideias em doentes com HHF, *Khosla et al. (96)* efectuaram infusões de

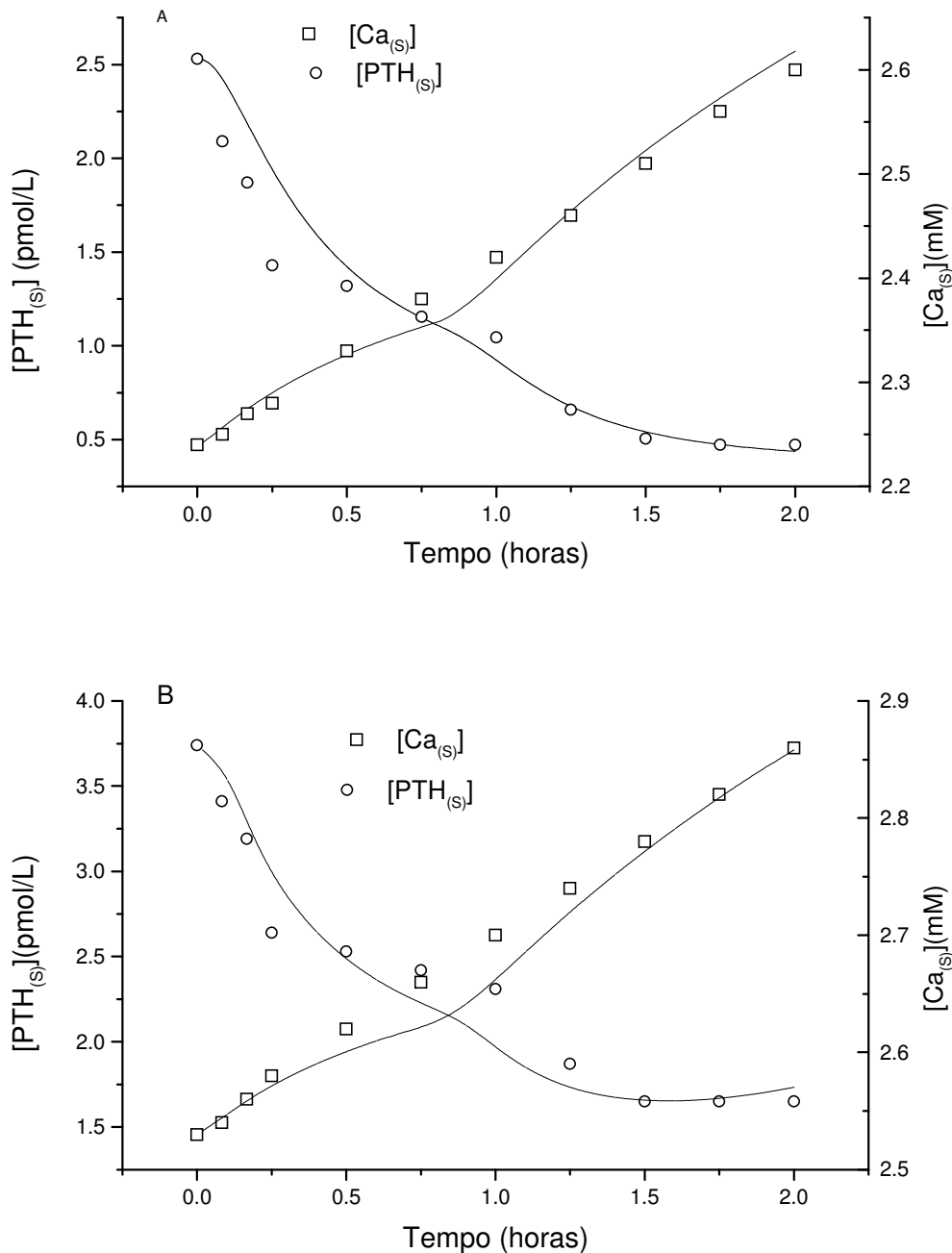


Figura 3.1.1.5 Representação do curso temporal das concentrações (médias) séricas de cálcio (quadrados) e PTH (círculos) antes e imediatamente após uma infusão positiva (modificado de 96) de cálcio. Painel A: grupo de voluntários normais; Painel B: grupo de doentes com Hipercalcémia, Hipocalciúrica Familiar (HHF). Linhas: assentamento do modelo. Dado o bom assentamento das curvas não se incluíram os desvios padrões.

gluconato de cálcio em 11 doentes e em 12 voluntários normais.

Após colheitas para determinação dos valores basais de PTH e de cálcio ionizado foi feita uma infusão endovenosa de gluconato de cálcio correspondente a 0.1 mg (0.025 mmol) de cálcio - elemento/Kg durante 1 hora. Na 2ª hora a infusão foi aumentada para 2 mg/Kg (0.05 mmol/Kg). Os doseamentos de cálcio ionizado e de PTH foram efectuados aos 5, 10 e 15 minutos iniciais e posteriormente a intervalos de 15 minutos até aos 120 minutos. Simulou-se esta experiência de modo idêntico à anterior: introduzindo uma perturbação equivalente à infusão de cálcio na equação diferencial da calcemia. Para simular a duplicação da infusão na 2ª hora introduziu-se uma 2ª perturbação quantitativamente idêntica à primeira mas atrasada no tempo. Os parâmetros utilizados para os voluntários normais quer para os doentes com HHF são os do Anexo V.

Os resultados dos voluntários são apresentados no painel A da Figura 3.1.1.5 e os dos doentes no painel B da mesma figura. Houve um bom ajustamento das curvas da simulação sobre os valores experimentais dos controlos normais e dos doentes HHF.

3.1.1.6 *RELAÇÃO ENTRE CALCÉMIA E CALCIÚRIA (COPP ET AL. (140))*

A relação calcémia/calciúria foi estudada por *Copp et al. (140)*. Esta experiência permite testar a capacidade do modelo para simular o comportamento do rim numa situação transitória.

As variações da excreção urinária de cálcio foram analisadas em 10 voluntários normais durante 9 horas após uma infusão de gluconato de cálcio (2.97 mmoles durante 1 hora).

Quando se injecta a débito constante e durante um período limitado uma certa quantidade de cálcio a calcémia sobe e, quando terminada a infusão, desce a uma taxa determinada pela velocidade de injeção, pelo espaço de distribuição do cálcio e pelo débito cardíaco. O gráfico da perturbação em função do tempo consiste numa linha horizontal com o valor zero antes da infusão, que salta abruptamente para um valor correspondente ao débito escolhido durante a infusão e salta de novo abruptamente para zero quando esta termina. A curva da calcémia passa em geral exponencialmente do seu valor controlo para um novo patamar e desce exponencialmente, terminada a infusão para o valor inicial¹⁸ (141). Para simular esta experiência

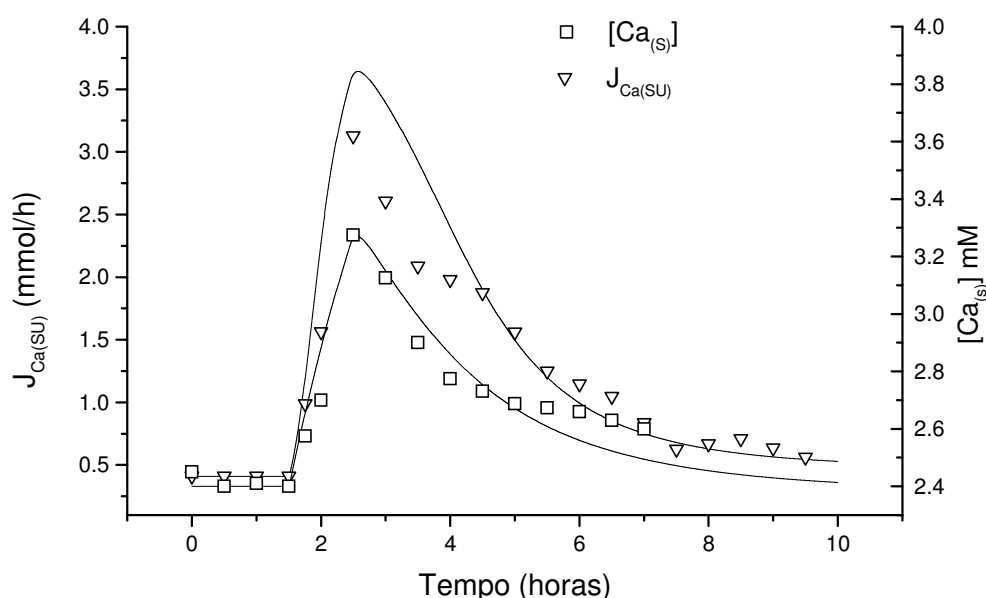


Figura 3.1.1.6 Representação do curso temporal dos valores (médios) das concentrações séricas de cálcio (quadrados) e respectivas calciúrias num grupo de indivíduos normais. (Modificado de 140). Linhas: assentamento do modelo. Dado o razoável assentamento das curvas não se incluíram os desvios padrões.

foi gerado um pulso na calcémia equivalente a uma quantidade fixa de cálcio administrada num determinado espaço de tempo (idêntico à perfusão de 1 hora nas condições experimentais).

¹⁸ Esta descrição é uma versão simplificada do que acontece realmente a qual corresponde ao comportamento de um compartimento razoavelmente agitado. Na realidade, um “bolus” de uma substância injectada ao mesmo tempo que difunde para os restantes espaços do organismo viaja pela circulação. O que se observa quando se colhe sangue num vaso é, numa primeira fase um progressivo, achatamento e alargamento da curva da concentração em função do tempo e numa segunda fase pode aparecer mais do que um pico de concentração.

Os parâmetros utilizados foram os referidos no Anexo V.

Os resultados da simulação estão descritos pela Figura 3.1.1.6 juntamente com os dados experimentais. Tal como em outras simulações conseguiu-se um bom ajustamento entre curvas calculadas e os pontos experimentais.

3.1.2 FISIOPATOLOGIA DAS DOENÇAS DA HOMEOSTASE DO CÁLCIO

Uma das vantagens da utilização de modelos matemáticos de sistemas é a possibilidade de se estudar o efeito de alterações de um ou mais parâmetros à escolha. Nesta secção serão simuladas situações que clinicamente se traduziriam por hiper ou hipocalcémias. Admitiu-se que nestas situações a concentração de cálcio no CEC se mantinha regulada mas com um ponto operacional mais elevado ou mais reduzido.

No hiperparatireoidismo primário estão descritas alterações na massa secretora e nos receptores de cálcio e calcitriol das glândulas paratiroideias (92, 93). É possível avaliar o efeito isolado de cada uma destas perturbações. A Figura 3.1.2.1 descreve o efeito de um aumento da massa secretora de paratiroideia até 2,5 vezes o valor inicial. Há um aumento da concentração no CEC de PTH que induz uma maior síntese de calcitriol, um balanço positivo de

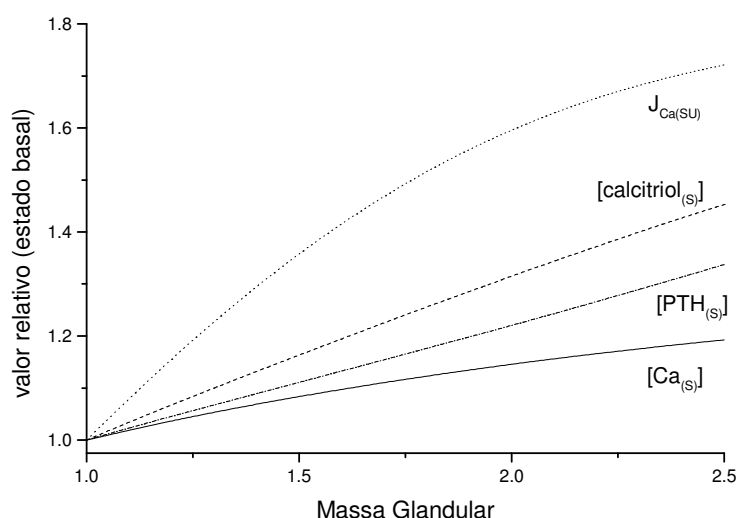


Figura 3.1.2.1 Simulação do efeito do aumento da massa secretora das paratiroideias sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre as calciúrias. No gráfico estão representados os valores estacionários expressos como fracções dos respectivos valores controlo ou de referência.

cálcio e consequentemente um aumento no cálcio no CEC. O aumento da carga tubular explica a calciúria aumentada. Verifica-se que para a perturbação máxima induzida se obtém um muito reduzido efeito quer na concentração sérica de PTH (cerca de 30%) quer ainda na calcemia (cerca de 10%).

A Figura 3.1.2.2 mostra o efeito da variação da afinidade do receptor de cálcio ($X_R(\text{PTH}/\text{Ca})$) nas glândulas paratiroideias. Uma diminuição da afinidade¹⁹ deste receptor até 2,5 vezes leva a pequenas variações das variáveis estudadas.

Variações da sensibilidade do mesmo receptor ($b(\text{PTH}/\text{Ca})$) traduzem-se

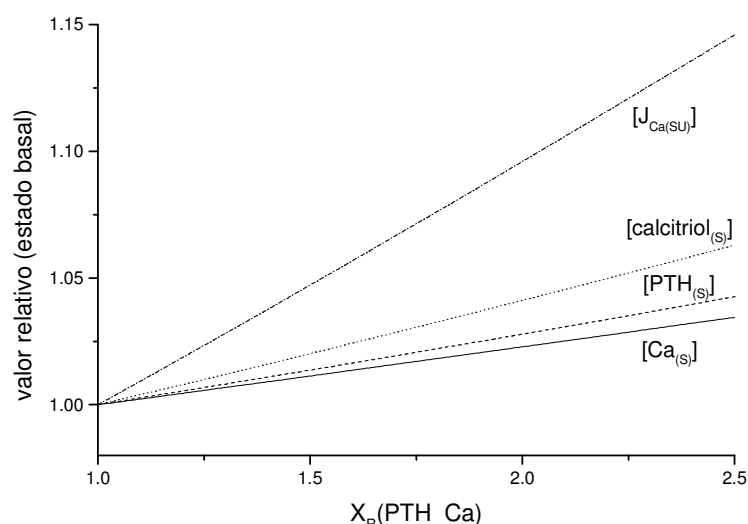


Figura 3.1.2.2 Simulação do efeito da diminuição da afinidade do receptor de cálcio ($X_R(\text{PTH_Ca})$) sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre as calciúrias. No gráfico estão representados os valores estacionários expressos como frações dos respectivos valores controlo ou de referência

por maiores variações da concentração sérica de PTH (Figura 3.1.2.3). A Figura 3.1.2.4 mostra o mesmo tipo de simulação para uma diminuição da afinidade do receptor de calcitriol nas células paratiroideias ($X_R(\text{PTH}/\text{D})$) e a Figura 3.1.2.5 a diminuição da sensibilidade do mesmo receptor ($b(\text{PTH}/\text{D})$). Nestas simulações, a PTH aumenta no CEC porque o ganho da malha de retro - alimentação que envolve o cálcio ou calcitriol está mais reduzido, ou porque a afinidade dos respectivos receptores nas células paratiroideias está diminuída ou ainda porque a sensibilidade da resposta dos receptores aos respectivos

¹⁹ Há diminuição da afinidade de um receptor quando a sua curva de resposta a um activador (neste caso cálcio) está deslocada para concentrações mais elevadas.

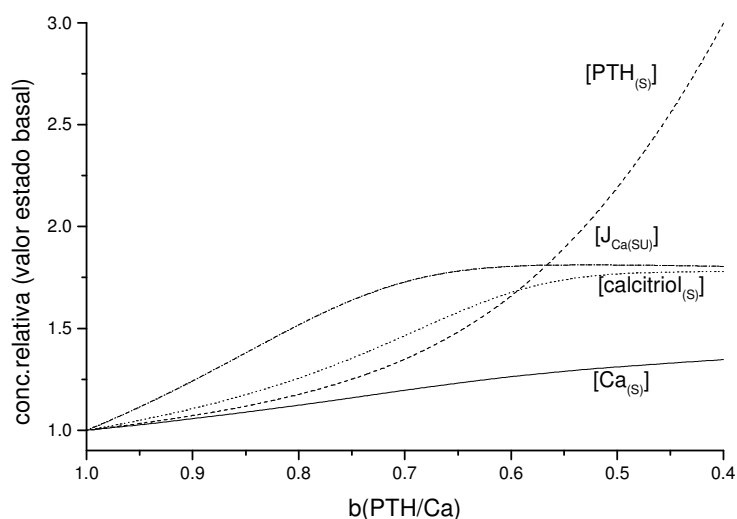


Figura 3.1.2.3 Simulação do efeito da diminuição da sensibilidade do receptor de cálcio ($b(\text{PTH}_{\text{Ca}})$) sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre as calciúrias. No gráfico estão representados os valores estacionários expressos como frações dos respectivos valores controle ou de referência.

ligandos está diminuída. A eficácia relativa destes três mecanismos reflecte as

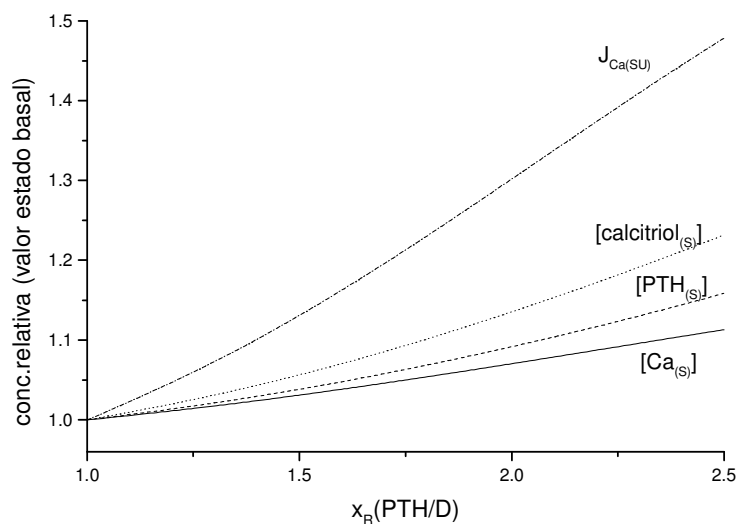


Figura 3.1.2.4 Simulação do efeito da diminuição da afinidade do receptor de calcitriol ($X_R(\text{PTH}/\text{D})$) sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre as calciúrias. No gráfico estão representados os valores estacionários expressos como frações dos respectivos valores controle ou de referência

suas respectivas cinéticas.

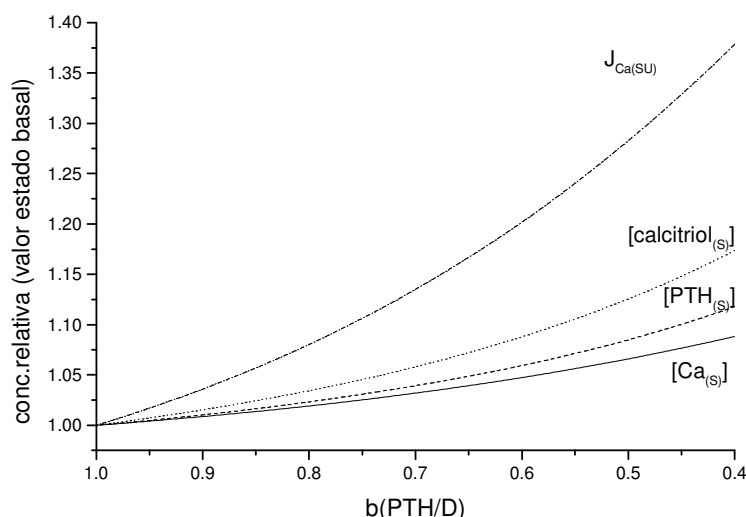


Figura 3.1.2.5 Simulação do efeito da diminuição da sensibilidade do receptor de calcitriol ($b(\text{PTH}/D)$) sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre as calciúrias. No gráfico estão representados os valores estacionários expressos como frações dos respectivos valores controle ou de referência.

As simulações seguintes ilustram a dissociação que existe entre as curvas de cálcio e PTH. Na Hipercalcemia Hipocalciúrica Familiar (FHH da literatura anglo-saxónica) (Figura 3.1.2.6) a afinidade do receptor de cálcio nas glândulas paratiroideias e no túbulo renal está diminuída. Este defeito nas células paratiroideias torna a secreção de PTH menos sensível à inibição pelo cálcio, produzindo em consequência, um aumento das concentrações no CEC de PTH e cálcio. No rim, esta alteração do receptor leva a uma diminuição da excreção urinária de cálcio. Dada esta acentuada diminuição da excreção urinária de cálcio, o aumento da concentração no CEC deste ião compensa largamente a diminuição da afinidade deste receptor. Uma análise do período transitório inicial mostraria um pico na concentração no CEC de PTH seguido por um pico mais atenuado de calcitriol. Depois destes picos iniciais existe uma descida lenta enquanto o cálcio no CEC aumenta de modo que, em estado estacionário, observamos uma hipercalcemia e concentrações de PTH e calcitriol ligeiramente inferiores aos valores iniciais mas dentro dos valores normais de referência.

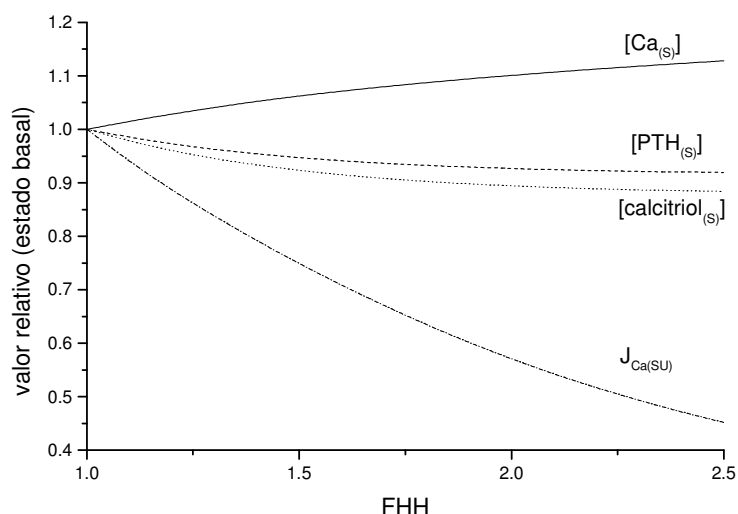


Figura 3.1.2.6 Simulação da FHH em que existe uma diminuição da afinidade do receptor do cálcio nas células da paratiroideia e do túbulo renal. Representa – se o efeito sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre as calciúrias. No gráfico estão representados os valores estacionários expressos como fracções dos respectivos valores controlo ou de referência.

Nas situações anteriores os níveis de calcitriol seguem os valores de PTH até que a estimulação da síntese de calcitriol atinge a saturação. Na doença de Jansen (142) a alteração primária é um aumento da afinidade do receptor de PTH no osso e no rim (Figura 3.1.2.7).

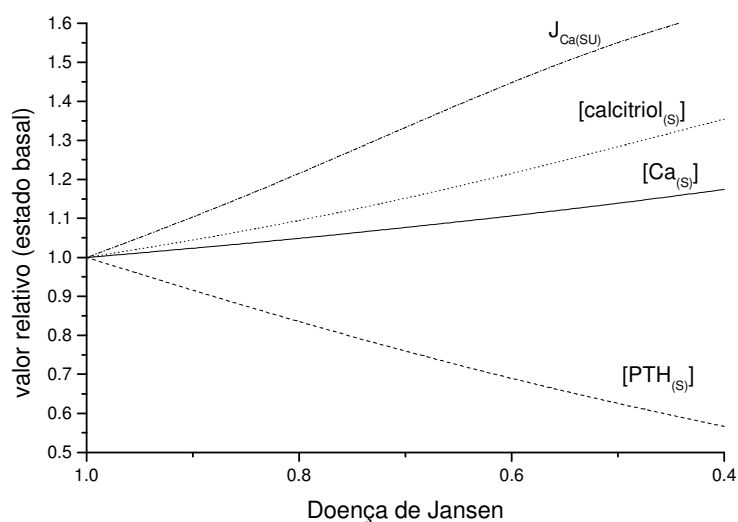


Figura 3.1.2.7 Simulação da doença de Jansen em que existe um aumento da afinidade do receptor da PTH no osso e no rim. Representa – se o efeito sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre as calciúrias. No gráfico estão representados os valores estacionários expressos como fracções dos respectivos valores controlo ou de referência

Na intoxicação por calcitriol (Figura 3.1.2.8), os níveis aumentados desta hormona no CEC inibem a secreção de PTH e estimulam a absorção de cálcio no intestino. A secreção de PTH está inibida em ambos os casos pelas altas concentrações de calcitriol. O limiar renal de cálcio está diminuído dada a baixa concentração de PTH. A maior excreção urinária de cálcio reflecte o aumento

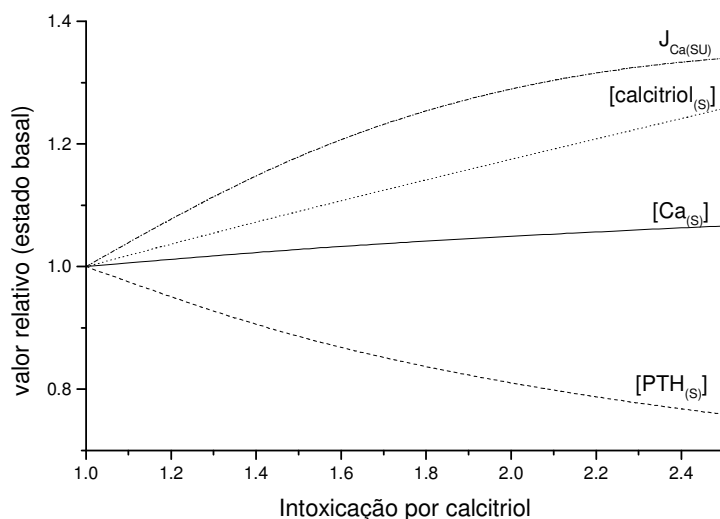


Figura 3.1.2.8. Simulação do efeito da intoxicação por calcitriol sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre a calciúria. No gráfico estão representados os valores estacionários expressos como fraccões dos respectivos valores controlo ou de referência.

da carga tubular resultante do ligeiro aumento do cálcio no CEC.

A Figura 3.1.2.9. simula a remoção cirúrgica de tecido paratiroideu. O efeito primário é uma queda na secreção de PTH e consequentemente uma diminuição das concentrações de cálcio e calcitriol. A diminuição da excreção urinária de cálcio corresponde a um efeito combinado entre a diminuição da carga tubular e uma diminuição moderada do limiar renal para a excreção de cálcio.

Na hipocalcémia autosómica dominante (143) a afinidade do receptor de cálcio no rim ($X_R(Ca_r)/Ca$) e na paratiroideia ($X_R(PT/Ca)$) está aumentada. O efeito dominante é uma diminuição do limiar de excreção renal e um consequente aumento da sua excreção. O efeito sobre a concentração sérica de PTH depende das afinidades do receptor de cálcio das células paratiroideias e do rim.

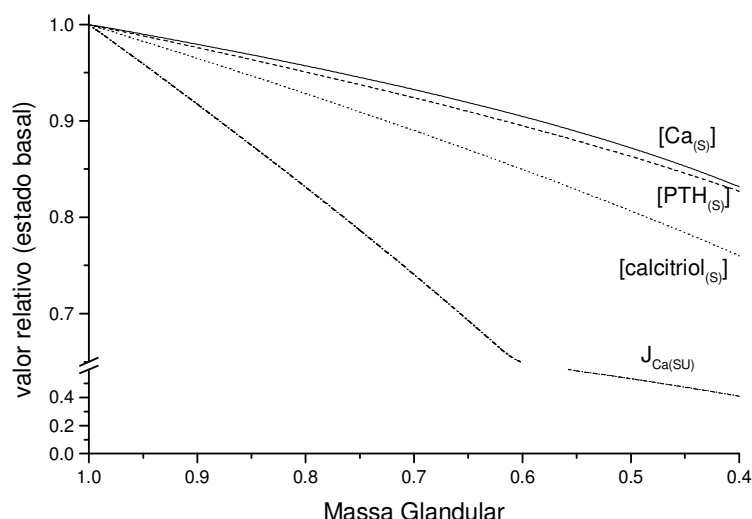


Figura 3.1.2.9 Simulação do efeito da remoção cirúrgica de massa secretora das paratiroideias sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre as calciúrias. No gráfico estão representados os valores estacionários expressos como fracções dos respectivos valores controlo ou de referência.

Nos casos publicados (143, 124, 125) as concentrações de PTH foram

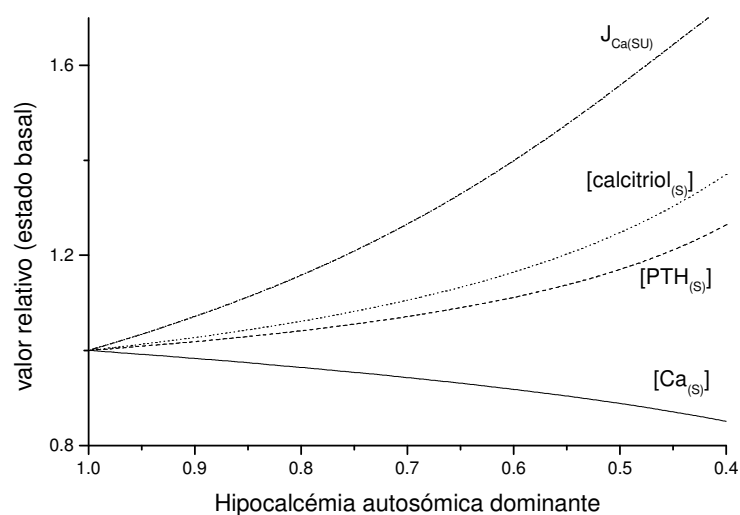


Figura 3.1.2.10 Simulação da hipocalcémia autosómica dominante em que existe um aumento da afinidade do receptor do cálcio nas células da paratiroideia e do túbulo renal. Representa – se o efeito sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre as calciúrias. No gráfico estão representados os valores estacionários expressos como fracções dos respectivos valores controlo ou de referência

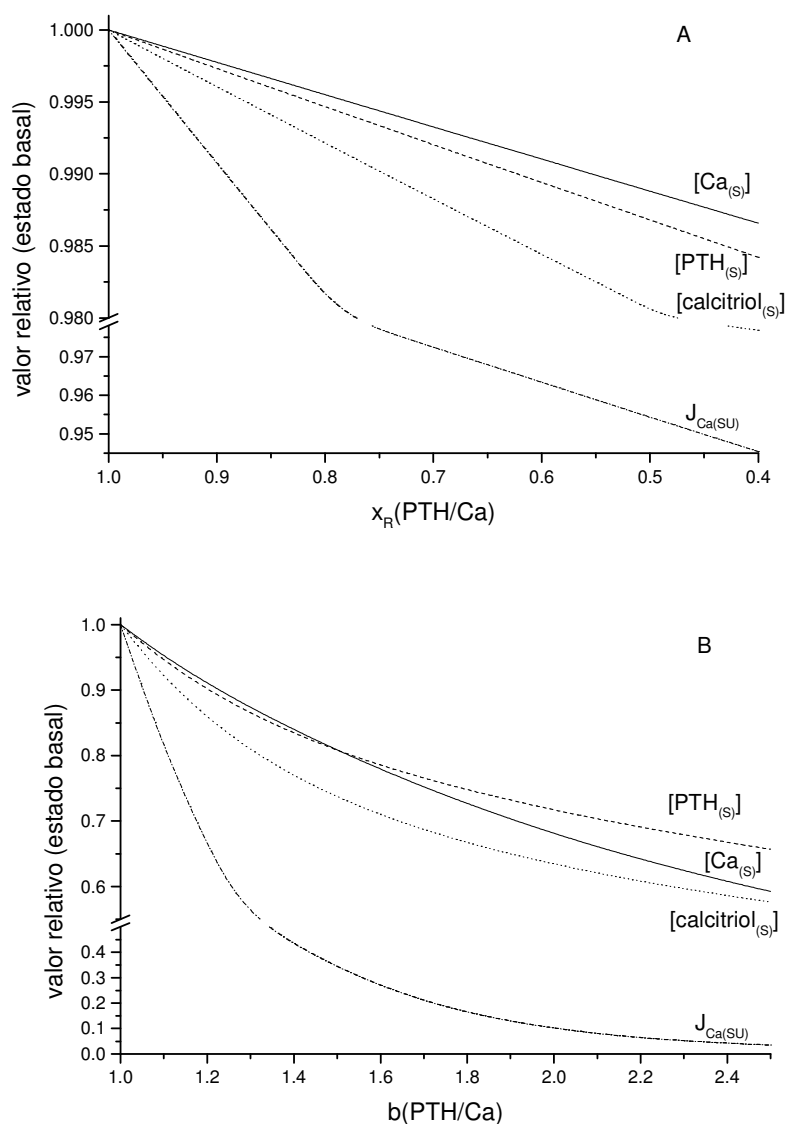


Figura 3.1.2.11. Simulação de um aumento da eficácia da inibição da secreção de PTH pelo cálcio do soro ou porque a afinidade do respectivo receptor aumenta (Painel A) ou porque aumenta a sua sensibilidade (Painel B). Representa – se o efeito sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre as calciúrias. No gráfico estão representados os valores estacionários expressos como fracções dos respectivos valores controlo ou de referência

normais ou inferiores à média dos indivíduos normais. Para se obter uma simulação destes resultados (Figura 3.1.2.10) foi necessário deslocar a afinidade do receptor paratiroideu no estado referência de 1 para 2.4 mM (que corresponde a uma diminuição da afinidade) de modo a poder simular-se o efeito do aumento da afinidade.

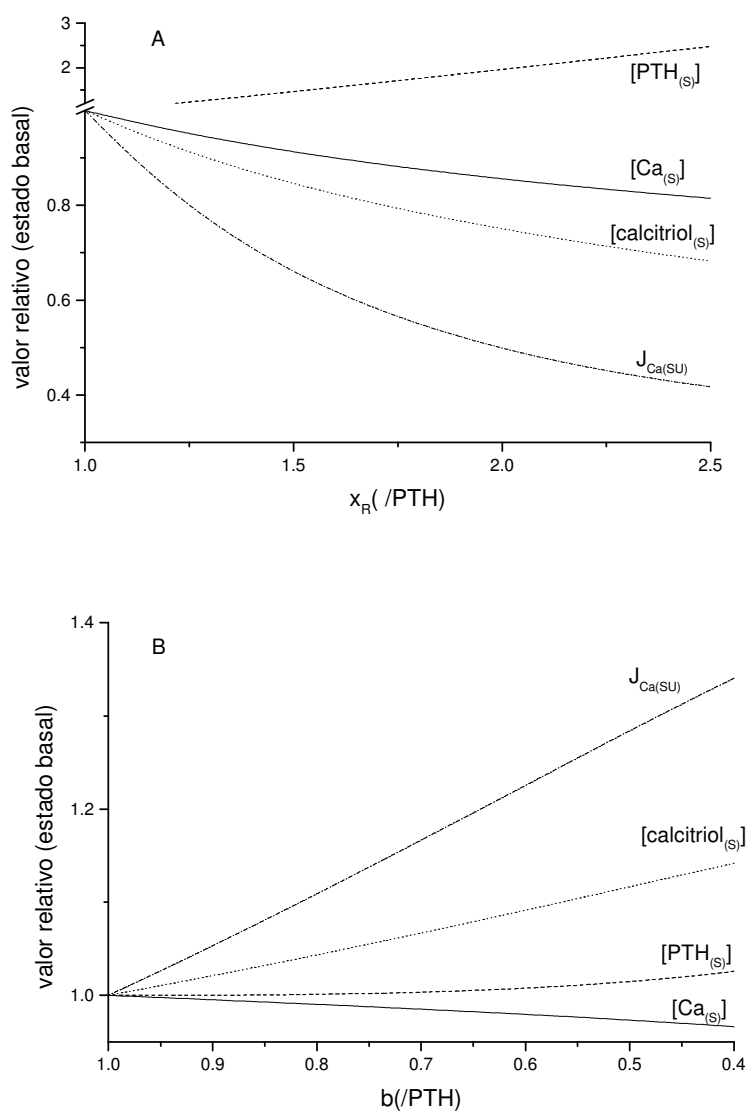


Figura 3.1.2.12. Simulação da diminuição da eficácia da PTH sobre os respectivos órgãos alvo ou porque a afinidade do respectivo receptor diminui (Painel A) ou porque diminui a sua sensibilidade (Painel B). Representa – se o efeito sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre as calciúrias. No gráfico estão representados os valores estacionários expressos como fracções dos respectivos valores controlo ou de referência

Na prática isso significou que o aumento da afinidade do receptor na paratiroideia foi maior do que no rim²⁰.

²⁰ Esta escolha não é implausível porque a activação do receptor é apenas o primeiro passo de duas cadeias de reacções diferentes: na paratiroideia o resultado é uma inibição da secreção de PTH e no rim uma inibição da reabsorção de cálcio

Os painéis A e B da Figura 3.1.2.11 ilustram duas situações em que existe um aumento da eficácia da malha de inibição pelo cálcio resultante de um aumento da afinidade ($X_R(\text{PTH}/\text{Ca})$) ou da sensibilidade ($b(\text{PTH}/\text{Ca})$) do receptor de cálcio na paratiroideia. O segundo mecanismo é claramente mais eficaz mas só uma análise mais extensa poderá mostrar a importância do ponto operacional escolhido para o estado basal. Os painéis A e B da Figura 3.1.2.12 correspondem a situações de pseudohipoparatiroidismo (85) e ilustram o efeito da alteração da afinidade ou da sensibilidade do receptor de PTH. Obtêm-se concentrações séricas de PTH acima do valor inicial e calcémias inferiores ao valor inicial. Estudos *in vitro* com células transfectadas mostraram que a produção de AMPc intracelular como função da concentração de PTH obedece a uma curva em "S" tal como no nosso modelo e que está diminuída nas células com proteína $G\alpha_s$ mutantes. Como não se observa uma clara saturação, não é possível determinar se existe uma diminuição de afinidade, uma diminuição de sensibilidade, ou ambas (144). Tal como nas simulações anteriores a eficácia dos diferentes mecanismos é diferente.

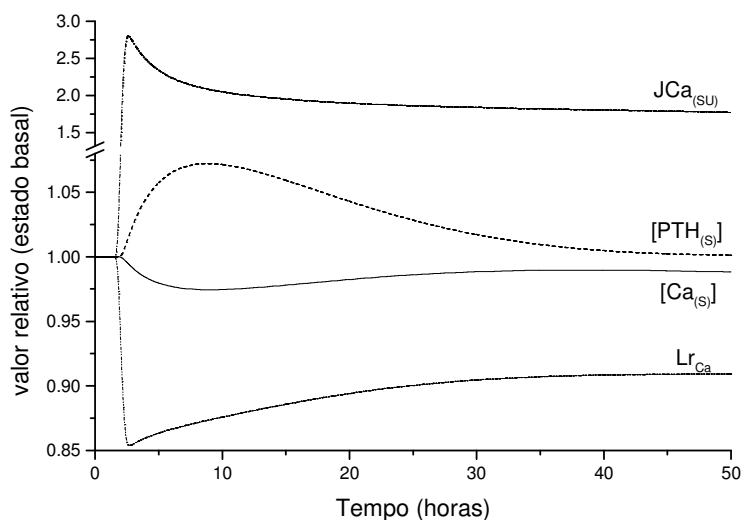


Figura 3.1.2.13. Simulação da evolução temporal antes e após uma súbita diminuição da eficácia da PTH (por diminuição da sensibilidade) sobre os respectivos órgãos alvo. Representa-se o efeito sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre as calciúrias. No gráfico estão representados os valores instantâneos expressos como fracções dos respectivos valores controlo ou de referência

Avalia-se melhor a última simulação observando primeiro o que acontece nas primeiras 50 horas de resposta à alteração introduzida (Figuras 3.1.2.13 e 3.1.2.14). Depois de um período controlo de 2 horas a sensibilidade do receptor foi reduzida em 60%. A Figura 3.1.2.13 mostra um efeito dramático no limiar de excreção urinária de cálcio (UCa_{TH}). A excreção urinária aumenta imediatamente e é seguida após um atraso pela descida da calcémia e

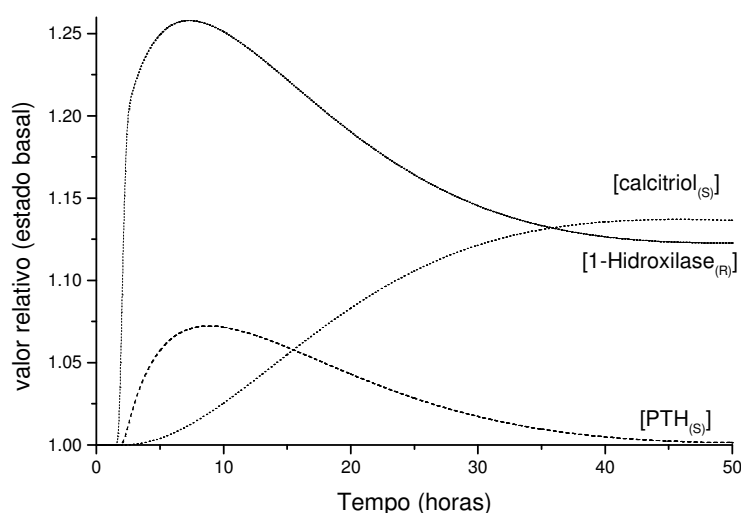


Figura 3.1.2.14. Simulação da evolução ao longo do tempo das concentrações de calcitriol e PTH após uma estimulação súbita da actividade da 1-hidroxilase.

consequentemente por um aumento de PTH no CEC.

A Figura 3.1.2.14 descreve a evolução ao longo do tempo da activação da 1α -hidroxilase e das concentrações plasmáticas de PTH e calcitriol (três variáveis funcionalmente ligadas).

3.1.2.1 INSUFICIÊNCIA RENAL

O crescimento e secreção das células paratiroideias são regulados pela concentração sérica de cálcio (145). O hiperparatiroidismo secundário pode desenvolver-se no contexto de uma hipocalcémia, reflectindo um aumento da massa secretora das glândulas paratiroideias. Na insuficiência renal podem coexistir vários factores que induzam o hiperparatiroidismo: baixas

concentrações séricas de cálcio e de calcitriol e concentrações séricas elevadas de fosfato. A simples redução da carga tubular de cálcio e da síntese

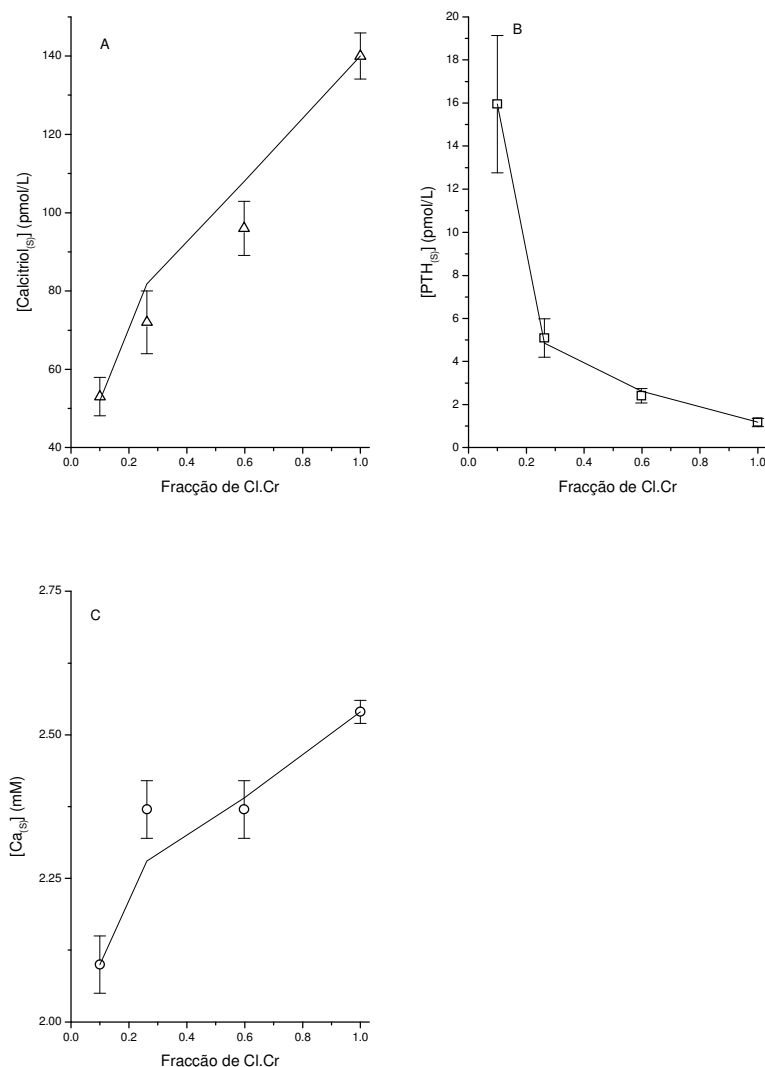


Figura 3.1.2.1.1 Valores estacionários das concentrações séricas de calcitriol (A), PTH (B), cálcio (C) em funções das respectivas depurações de creatinina(Cl.Cr), em doentes com insuficiência renal crónica (de 146). As linhas correspondem aos valores obtidos por simulação. Para detalhes ver texto.

do calcitriol não permitiu a simulação de dados publicados por Pitts (146) em que são descritos doentes com diferentes graus de insuficiência renal. A Figura 3.1.2.1.1 compara estas observações com as simulações para diferentes depurações de creatinina (0.093, 0.26, 0.6 do valor controlo) assumindo-se uma massa secretora de paratormona 4.8, 2.2 e 1.7 vezes maior que o valor inicial, respectivamente. A concentração de cálcio no CEC reflecte o balanço

entre o efeito da redução da excreção urinária de cálcio por efeito da insuficiência renal e uma menor absorção intestinal por diminuição da

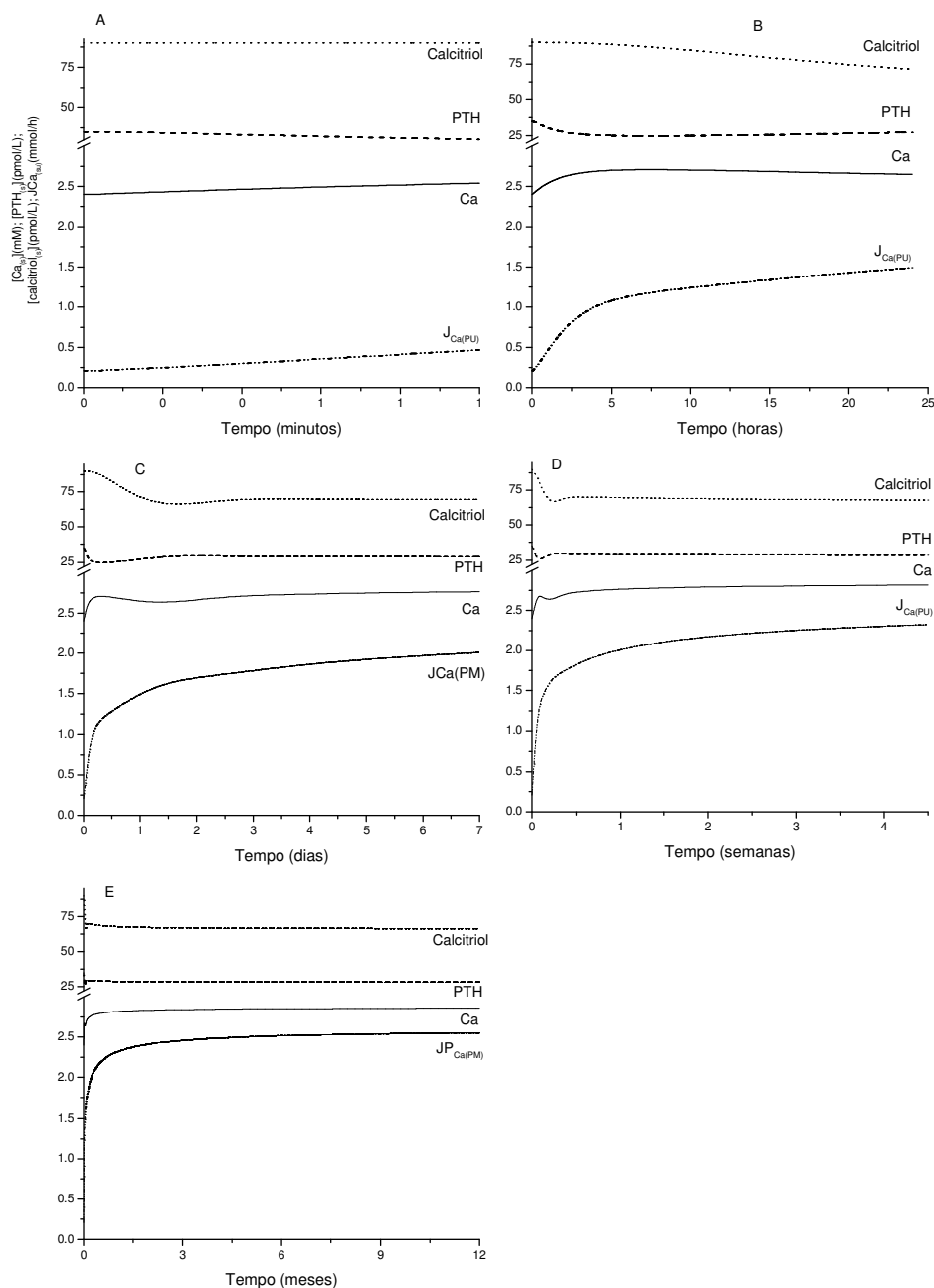


Figura 3.1.3.1 Simulação do efeito de uma infusão crônica de cálcio. O efeito é descrito em 5 escalas temporais: minutos, horas, dias, semanas, meses a que correspondem os painéis A – E. Representam-se os valores (absolutos) das concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e das calciúrias.

concentração séria de calcitriol.

3.1.3 RESPOSTA A INFUSÕES CRÔNICAS DE CÁLCIO, PTH OU CALCITRIOL

O modelo permite simular experiências de difícil transposição para a prática clínica, por dificuldades de exequibilidade prática, custos excessivos ou problemas éticos.

Os painéis A a E da Figura 3.1.3.1 traduzem a simulação de uma infusão constante de 100 mg/h (2.5 mmol/h) de cálcio durante 12 meses. Observa-se um aumento da calcemia desde o início e como resultado do aumento da carga tubular existe também um aumento da calciúria. A descida da paratormona circulante (causada pela inibição da sua secreção pelo cálcio) segue a concentração sérica deste ião. Após 6 - 7 horas e apesar da infusão se manter, a concentração de cálcio no CEC começa a descer porque a concentração sérica da paratormona está a descer. Entretanto a concentração sérica de calcitriol começa a descer reflectindo a descida da paratormona circulante mas com um atraso que é devido à sua taxa de degradação mais baixa. Ao fim de uma semana o sistema aproxima-se de um novo estado (quase -)estacionário que se define claramente ao fim de 5 - 6 meses. Este novo estado caracteriza-se por uma calcemia e calciúria mais elevadas que os valores iniciais e níveis mais reduzidos de paratormona e calcitriol.

Os painéis A-C da Figura 3.1.3.2 descrevem simulações de infusões prolongadas de cálcio, paratormona e calcitriol variando desde infusões negativas (correspondendo no caso do cálcio por infusões de quelantes de cálcio) a infusões positivas.

Verifica-se que perante infusões crescentes de cálcio (-20 a 100 mg/h ou -0.5 a 2.5 mmol/h) as concentrações de cálcio no CEC sobem (de modo mais acelerado nas infusões negativas) conduzindo a uma redução das concentrações de paratormona e consequentemente de calcitriol. A calciúria sobe não só por aumento da carga tubular mas também porque a reabsorção tubular de cálcio diminui por efeito da redução da secreção de paratormona. Nas infusões de paratormona (Painel B) existe um aumento das três variáveis aqui observáveis. Atinge-se a saturação para o cálcio, calcitriol e calciúria quando o débito de infusão iguale a taxa de secreção basal. A resposta renal à

paratormona resultou do ajuste do modelo aos dados de Peacock (55). O painel C ilustra o efeito de uma infusão de calcitriol. A resposta da paratormona

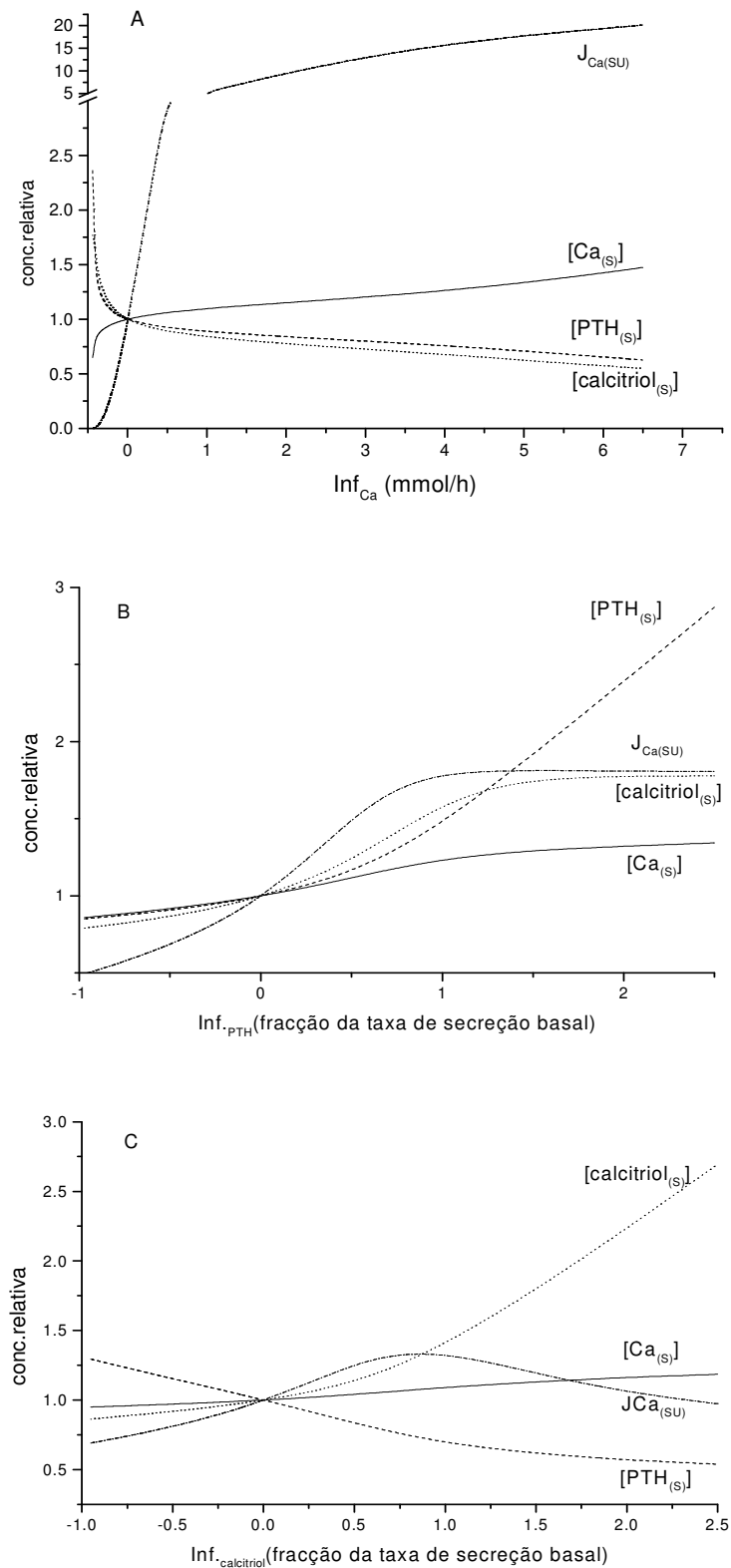


Figura 3.1.3.2 Simulação do efeito de infusões crônicas de cálcio (Painel A), PTH (Painel B) e calcitriol (Painel C) sobre as concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol e sobre a calciúria. São representados valores como fracções dos respectivos valores de referência.

resulta directamente da inibição pelo calcitriol circulante. A resposta bifásica da calciúria reflecte por um lado, o aumento concentração de cálcio no CEC e portanto da carga tubular, por outro da descida brusca concentração paratormona no CEC.

3.2 ANÁLISE DE DADOS LABORATORIAIS OBTIDOS EM DOENTES DO SERVIÇO DE ENDOCRINOLOGIA DO IPO

A expressão bioquímica das perturbações da homeostase do cálcio deve reflectir, ainda que de forma distorcida, o funcionamento dos seus mecanismos porque é improvável que todos estes sejam simultaneamente afectados.

A ser assim, os quadros bioquímicos das alterações do metabolismo do cálcio devem ser determinados pelas alterações de alguns dos seus mecanismos (o aumento da secreção de PTH, por exemplo) e pelas reacções dos restantes componentes do sistema a essas disfunções.

Isso significa que a análise dos quadros bioquímicos das diferentes doenças do metabolismo do cálcio deve fornecer informações sobre a génese dessas patologias.

Os objectivos desta análise são muito variados.

Em primeiro lugar será a detecção de padrões²¹ nas variáveis observáveis em estado estacionário. As concentrações de cálcio, fosfato, PTH e calcitriol no sangue, calciúria e fosfatúria e depuração de creatinina são um conjunto mínimo a que se poderão acrescentar as morfologias das glândulas paratiroideias e do osso.

Em segundo lugar são as relações funcionais entre essas variáveis que podem ser observáveis a partir de avaliações repetidas no mesmo doente ou em experiências agudas em que se perturba uma ou mais dessas variáveis (infusões de cálcio, injeções de PTH ou de calcitriol, regimes alimentares especiais, etc.).

O estudo retrospectivo de quadros bioquímicos relevantes para a caracterização do metabolismo do cálcio incidiu sobre um grupo de 1674 registos efectuados entre 1 Janeiro de 1994 e Setembro de 2001, relativos a 894 doentes dos quais 802 foram observados no IPOFG-CRL. O critério de selecção dos registos foi o de conterem valores relativos a PTH, calcitriol, ou 25-vitamina D.

²¹ a palavra “padrão” é aqui usada para designar uma constelação de valores de um grupo de variáveis característica de uma situação clínica.

Foram seleccionadas como grandezas relevantes para o presente estudo, a depuração de creatinina, as concentrações séricas de cálcio, fosfato, calcitriol, vitamina D e PTH e as excreções urinárias de cálcio e fosfato.

Em 107 indivíduos foi feita mais do que uma determinação destas grandezas.

A distribuição por grupo etário está descrita na Figura 3.2.1 em que se pode ver que tem uma configuração bimodal. O bico centrado em torno dos 24 anos corresponde ao grupo de doentes que frequenta a consulta de Endocrinologia de Reabilitação (ver abaixo). O segundo máximo está centrado

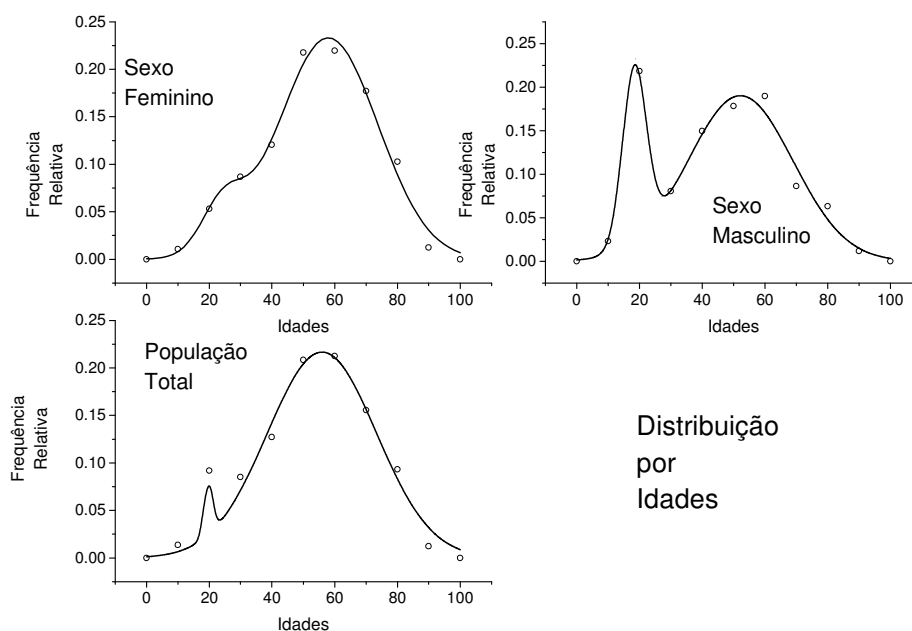


Figura 3.2.1 Grupo de doentes observados no Serviço de Endocrinologia do IPOFG-CROL,SA (SE_ IPOFG) Distribuição por idades.

em torno dos 58 anos. Do total de indivíduos observados 76% foram do sexo feminino.

De acordo com os dados clínicos das fichas foi possível distribuir os indivíduos por 9 grupos.

NORMAIS: 208 indivíduos a quem foram pedidas análises laboratoriais por procurarem a consulta como consequência de queixas inespecíficas: dores, etc. e em quem não foi possível detectar alterações bioquímicas, endócrinas ou radiológicas ósseas.

ENDOCRINOLOGIA DE REABILITAÇÃO (ER): 60 indivíduos seguidos no IPOFG-CRL por doença oncológica e anteriormente submetidos a radioterapia e/ou quimioterapia.

HIPERPARATIROIDISMO PRIMÁRIO (HPP): 68 indivíduos com hipercalcemia e níveis elevados de PTH em que foram excluídas as causas mais frequentes de hiperparatiroidismo secundário (insuficiência renal e hipovitaminose D).

HIPERPARATIROIDISMO SECUNDÁRIO (HPS): 12 doentes com insuficiência renal e níveis elevados de PTH.

LITÍASE RENAL (LR): 5 doentes com diagnóstico radiológico ou ecográfico de litíase renal sem causa identificável.

METÁSTASES ÓSSEAS (MO): 12 doentes seguidos na consulta por carcinomas da tireoideia ou da mama com indicação de terapêutica com bisfosfonatos.

OSTEOPOROSE (OP): 13 doentes com sinais radiológicos de osteoporose sem causa aparente.

DOENÇA de PAGET ÓSSEA (PG): 27 doentes com diagnóstico laboratorial (fosfatase alcalina óssea elevada) e radiológico (imagens hiperdensas de contornos algodinosos).

HIOPARATIROIDISMO (Hipo): 62 doentes com hipoparatiroidismo pós-cirúrgico.

No painel superior da Figura 3.2.2 estão representadas as médias e respectivos erros padrões para os diferentes grupos de doentes. A comparação dos painéis correspondentes às diferentes variáveis estudadas permite verificar que o cálcio sérico é o que menos varia de situação para situação. Esta observação é mais clara no painel inferior que foi elaborado calculando a diferença entre os valores extremos dos cocientes entre as médias para cada condição clínica e variável e os correspondentes valores normais. A concentração sérica de cálcio é portanto um indicador pouco sensível dos diferentes quadros clínicos pelo que não são de esperar relações funcionais claras com as outras variáveis. A variável que maiores variações exhibe é a concentração sérica de PTH seguindo – se –lhe as concentrações séricas de calcitriol e a excreção urinária de cálcio.

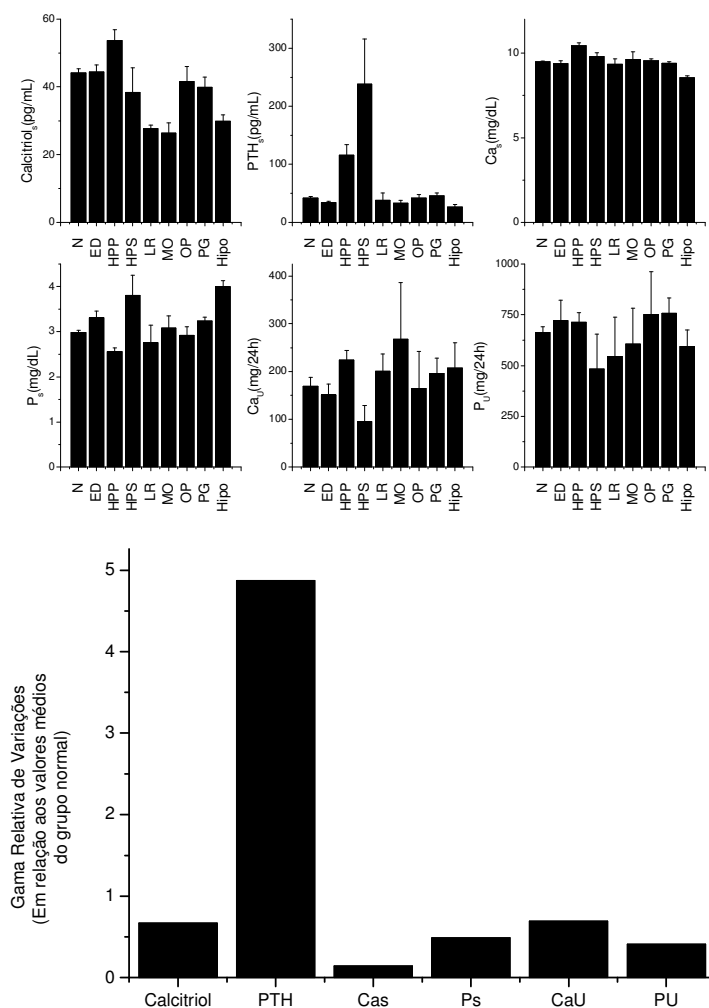


Figura 3.2.2. Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG. Distribuição dos valores (médias \pm e.p.m) das concentrações séricas de cálcio, fósforo, PTH, calcitriol, e das calciúrias e fosfatúrias por entidades nosológicas. Painel inferior: Gama relativa de variações em relação ao valor médio do grupo normal

Analísaram-se separadamente os dados obtidos em indivíduos em que foram feitas repetidas determinações. Para o caso das concentrações de cálcio e PTH séricos, foi possível identificar duas sub-populações de indivíduos conforme a correlação Ca/PTH no soro era positiva ou negativa. Para cada

sub-população os valores de cada uma das duas variáveis foram agrupados e distribuídos por classes de frequência. As médias e erros padrões para cada classe estão representados na Figura 3.2.3 juntamente com a frequência relativa das diferentes situações clínicas (figura inserida). O grupo em que a correlação é positiva inclui quase exclusivamente situações de hiperparatiroidismo primário onde é de esperar que a calcémia seja determinada pela taxa de secreção de PTH e não o contrário.

A produção de calcitriol e a excreção urinária de cálcio e fósforo dependem fortemente da função renal de cada doente. A produção de calcitriol depende da massa tubular onde reside a 1-hidroxilase, a calciúria e a fosfatúria

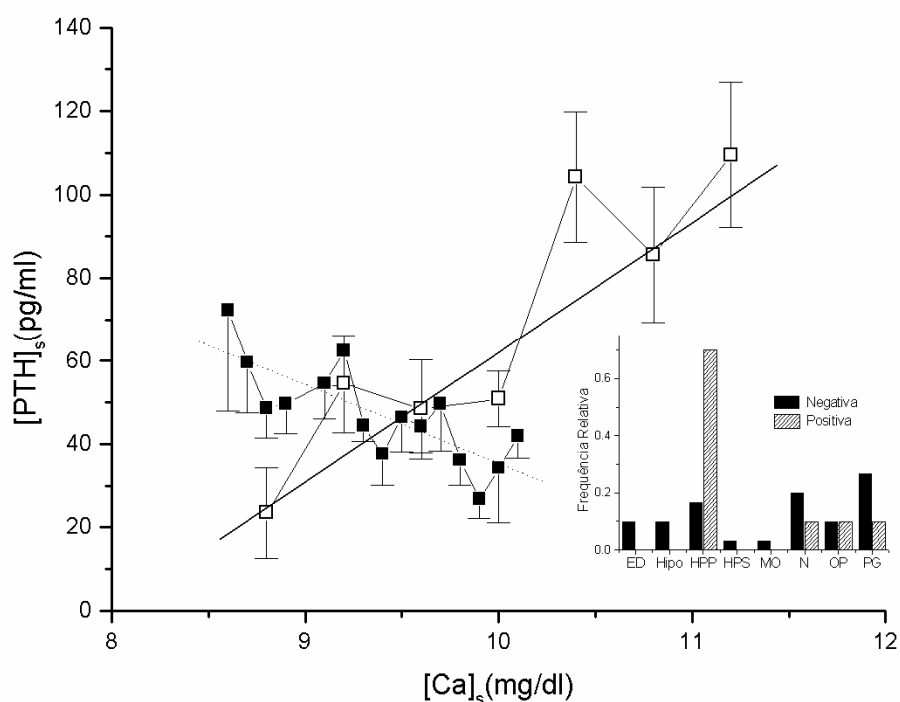


Figura 3.2.3. Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG Relação entre cálcio e PTH (médias \pm e.p.m.). Só se usaram doentes em que se fizeram determinações repetidas que foram repartidos por dois grupos conforme a correlação foi positiva (quadrados abertos) ou negativa (quadrados a cheio). A gravura inserida mostra a distribuição dos dois grupos por entidades nosológicas

são pequenas fracções da respectiva carga tubular. Idealmente os resultados deviam ser normalizados para a depuração de inulina, o índice mais rigoroso da filtração glomerular. Na prática filtrado glomerular é clinicamente estimado

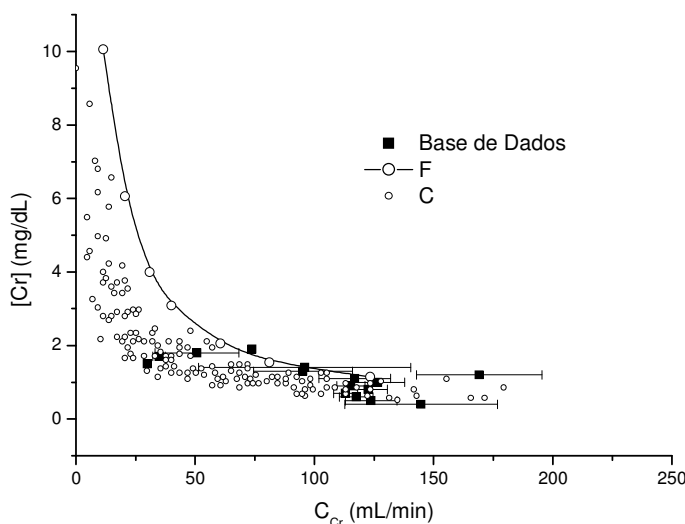


Figura 3.2.4. Relação entre a concentração sérica de creatinina (Cr) e a depuração de creatinina (C_{Cr}). Os círculos abertos (C) foram obtidos a partir da figura de Rose e Post (147). Os quadrados a cheio foram obtidos a partir de 41 doentes observados no SE_ IPOFG. A linha contínua (F) representa os filtrados glomerulares verdadeiros.

a partir das creatininémias e das creatininúrias e mais frequentemente a partir das creatininémias.

Na Figura 3.2.4 estão representados no eixo dos X's os valores das depurações de inulina. A curva contínua dá as creatininémias esperadas se a creatinina se comportasse como a inulina. Os círculos abertos representam as creatininémias reais (147). A partir destes dados extraímos as relações entre depurações de inulina e creatinina obtidas nos mesmos indivíduos ou seja correspondendo a cada valor da creatininémia. Como pode ver-se para valores progressivamente menores do filtrado glomerular o erro relativo dos filtrados estimados a partir das depurações de creatinina é progressivamente maior. Os quadrados fechados representam os valores correspondentes a 41 doentes, uma pequena fracção do total.

Do mesmo grupo de doentes em que foram feitas análises repetidas foi constituída uma sub-população que compreende os valores emparelhados de cálcio sérico e da fracção da carga tubular reabsorvida. A Figura 3.2.5 onde estão representados estes dados mostra que à medida que a carga tubular aumenta a fracção reabsorvida diminui como seria de esperar de um processo

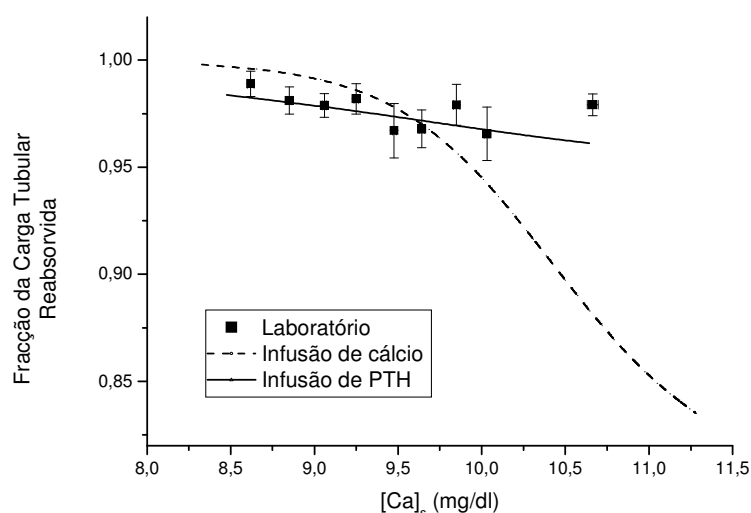


Figura 3.2.5 Relação entre a fracção da carga tubular reabsorvida e a concentração sérica de cálcio. Quadrados fechados (médias \pm e.p.m.): doentes observados no SE_ IPOFG. Curva a tracejado: simulação de infusões crónicas de cálcio. Curva a cheio: simulação de infusões crónicas de PTH.

que satura.

A par dos valores correspondentes aos doentes estão representadas duas simulações. A linha a cheio corresponde à simulação em que se forçou uma variação na secreção de PTH, ao passo que a curva a tracejado resultou de variações da concentração circulante de cálcio.

Na Figura 3.2.6 estão representadas pares de variáveis numa tentativa de se identificar quais as variáveis que podem ser usadas para separar quadros clínicos. Estas figuras mostram que as concentrações séricas de PTH, calcitriol, cálcio e eventualmente fosfato são as que melhor permitem uma separação das entidades clínicas. Na figura tri-dimensional 3.2.7 pode ver-se que é possível separar quatro quadros: o hiperparatiroidismo secundário (HPS), o hiperparatiroidismo primário (HPP), o hipoparatiroidismo que na nossa base de dados é exclusivamente pós-cirúrgico (HIPO) e finalmente um grupo

que inclui pessoas normais(N), doentes com osteoporose (OP) e doentes com doença de Paget óssea (PG). Os doentes com metástases ósseas (MO) e litíase renal (LR) estão separados dos outros quatro grupos mas são em número tão reduzido que a sua localização no gráfico pode ser espúria.

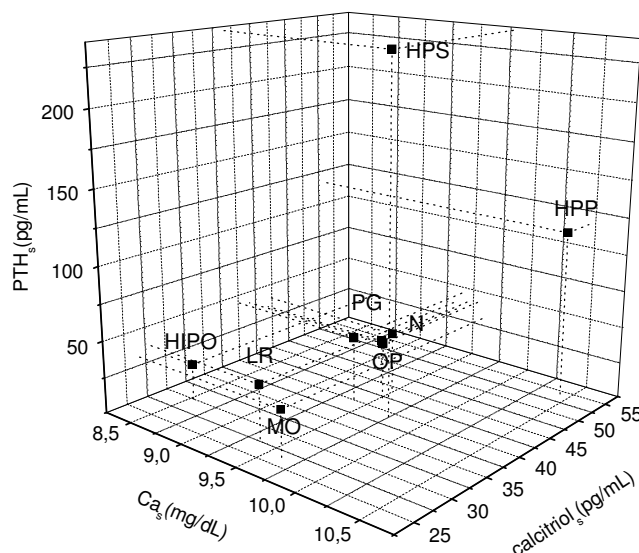


Figura 3.2.7. Representações tridimensional dos valores (médias \pm e.p.m) das concentrações séricas de cálcio, PTH e calcitriol por entidades nosológicas doentes observados no SE_ IPOFG.

Qualquer tentativa para estabelecer relações funcionais entre dados obtidos em doentes diferentes pressupõe que esses doentes constituem um grupo homogéneo. O critério mais simples de homogeneidade de uma sub-população²² é ter uma curva de distribuição unimodal²³.

Na Figura 3.2.8 estão representadas as curvas de distribuição de quatro variáveis (calcémia, fosfatémia e concentrações séricas de PTH e calcitriol). As quatro variáveis obedecem a distribuições unimodais. As curvas de distribuição das calcémia, fosforémia e calcitriol são normais ao passo que a curva de

²² o termo *sub-população* é aqui usado para designar um conjunto de valores de uma variável extraído de um outro mais vasto, que pode ser infinito e que representa o “universo” ou seja o conjunto de todos os valores possíveis dessa variável.

²³ numa *população homogénea* os valores distribuem-se segundo uma curva que tem um e só um valor máximo. Neste caso chama-se unimodal.

distribuição das concentrações de PTH é assimétrica mas pode ser descrita por

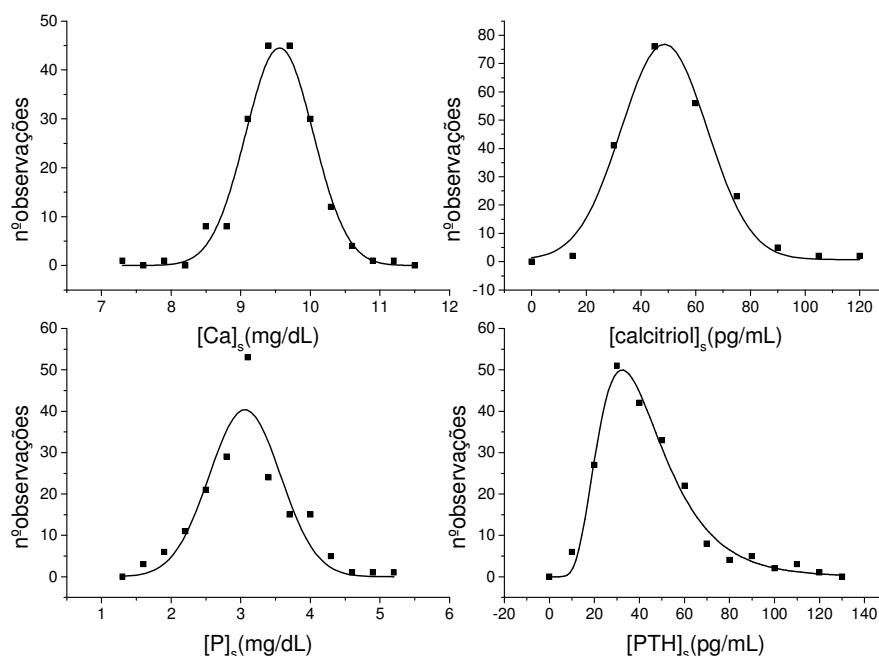


Figura 3.2.8. Distribuição por classes de frequência das concentrações séricas de cálcio, fósforo, PTH e calcitriol e das calciúrias e fosfatúrias em doentes observados no SE_ IPOFG.

uma distribuição log-normal.

A tabela 1 mostra os valores médios e o erro padrão da média das calcémias, fosforémias, concentrações séricas de cálcio e de calcitriol encontrados na nossa população normal bem como os valores referenciados por Williams (3).

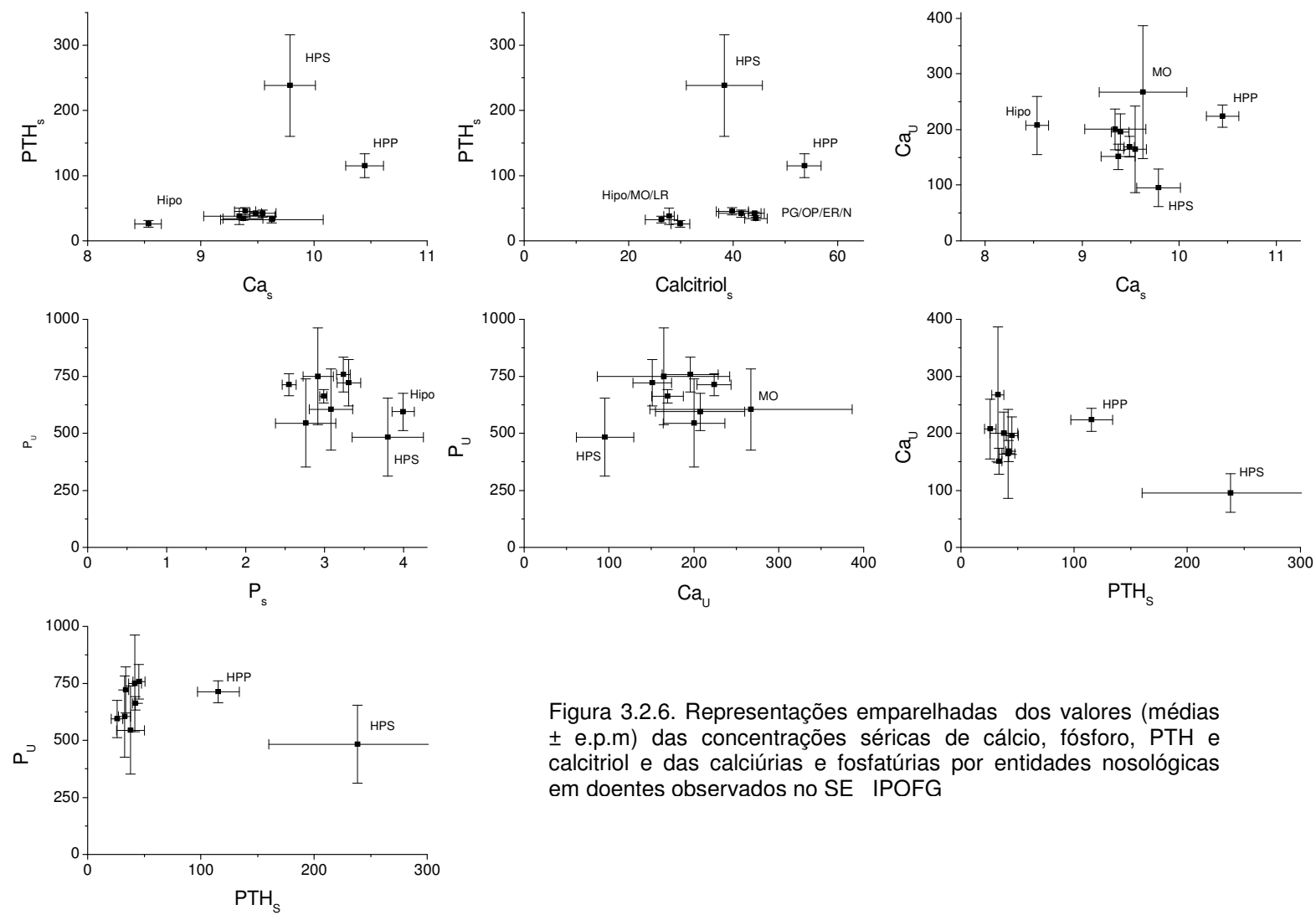


Figura 3.2.6. Representações emparelhadas dos valores (médias \pm e.p.m) das concentrações séricas de cálcio, fósforo, PTH e calcitriol e das calciúrias e fosfatúrias por entidades nosológicas em doentes observados no SE IPOFG

Tabela 1 – Valores médios e respectivos erros padrões obtidos a partir do sub-grupo de indivíduos sem alterações do metabolismo do cálcio

	média	erro padrão da média	Nº de doentes	Williams (3)
Calcemia (mg/dL)	9.56	0.41	188	8.8 -10.3
Fosforémia (mg/dL)	3.06	0.52	185	2.5 -3.8
PTH (pg/mL)	39.5	1.04	208	15 –67
Calcitriol (pg/mL)	48.5	1.09	207	32 - 65

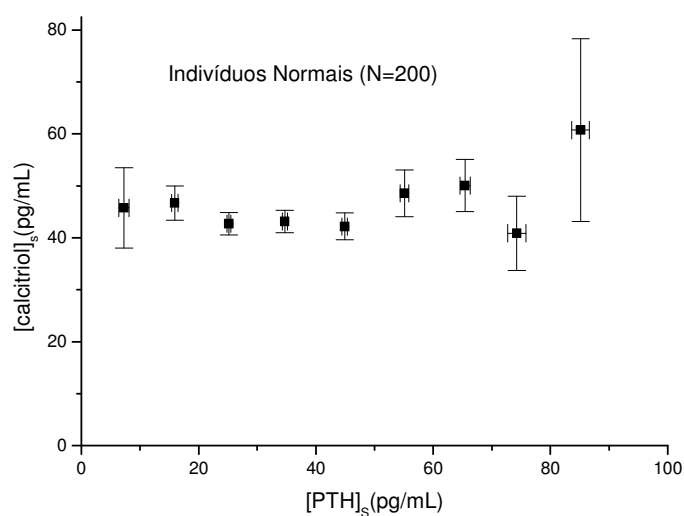


Figura 3.2.9. Representação dos valores (médias \pm e.p.m) das concentrações séricas de calcitriol e PTH medidas simultaneamente num grupo de indivíduos normais observados no SE_ IPOFG.

A Figura 3.2.9 descreve a relação entre as concentrações séricas de PTH e de calcitriol em 200 indivíduos normais. Os valores foram repartidos por classes de frequência e para cada classe foram calculados os valores médios e os correspondentes erros padrões.

O gráfico mostra que as flutuações nas concentrações de PTH são muito maiores do que as das concentrações de calcitriol e não existe uma correlação entre as duas variáveis.

Se analisarmos o conjunto dos doentes estudados que consiste praticamente em indivíduos normais ou sofrendo de disfunção (hipo ou hiper) primária da paratiroideia obtém-se a Figura 3.2.10 em que é claramente evidente uma correlação entre as concentrações séricas de PTH e calcitriol para concentrações de PTH abaixo dos valores normais. Acima de 30 pg/mL

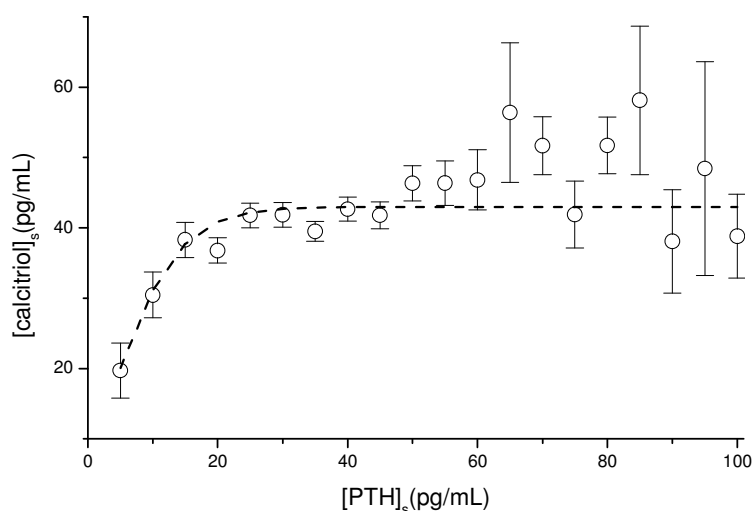


Figura 3.2.10 Gráfico idêntico ao anterior obtido na população total de indivíduos no SE_ IPOFG. Foram excluídos casos em que o valor da PTH era superior a 100.

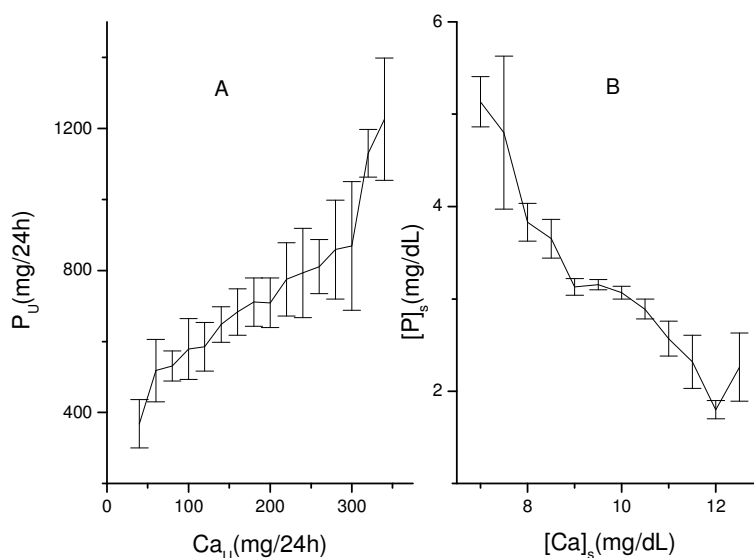


Figura 3.2.11 Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG. Painei A Relações entre os valores (médias \pm e.p.m) das calciúrias e fosfatúrias. Painei B: Relações entre os valores (médias \pm e.p.m) das calcémias e fosforémias.

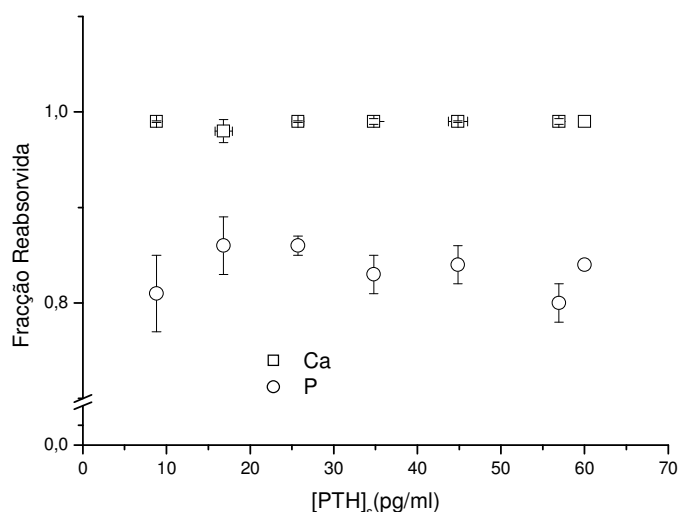


Figura 3.2.12. Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG
Relação entre os valores (médias \pm e.p.m) das fracções. das
cargas tubulares de cálcio e fósforo reabsorvidas e a
concentração sérica de PTH medida simultaneamente.

(3.3 pM) o efeito da PTH sobre a secreção de calcitriol está saturado, observando-se 50% do valor saturante para uma concentração de 7.7 pg/mL (0.85 pM).

O painel B da Figura 3.2.11 mostra uma correlação negativa entre calcémia e fosforémia que seria de prever a partir das acções da PTH sobre o tubo renal (88).

Uma vez que o efeito da PTH sobre a excreção renal de cálcio (retenção) é oposto ao efeito sobre a fosfatúria (eliminação) seria de esperar uma correlação igualmente negativa entre calciúrias e fosfatúrias o que se não verifica na prática (painel A).

Uma análise destes resultados implica a determinação das cargas tubulares de cálcio e fósforo o que só pôde ser feito num pequeno número de

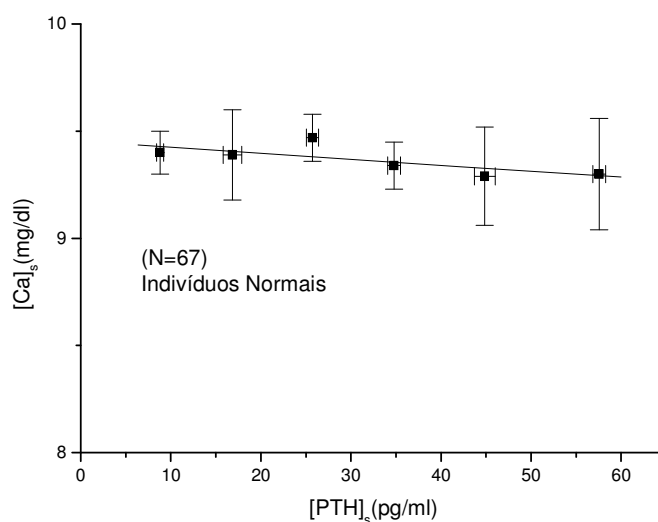


Figura 3.2.13. Grupo de (67) indivíduos normais observados no SE_ IPOFG Relação entre os valores (médias \pm e.p.m.) das concentrações séricas de cálcio e PTH. Linha contínua obtida por regressão linear.

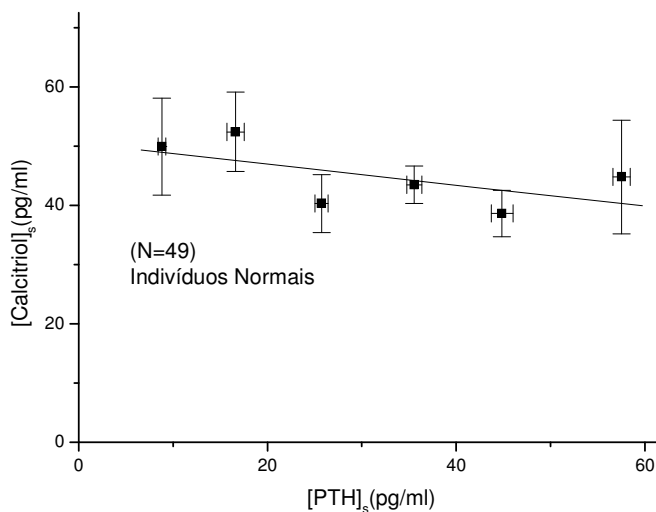


Figura 3.2.14. Grupo de 49 indivíduos normais observados no SE_ IPOFG Relação entre os valores (médias \pm e.p.m.) das concentrações séricas de PTH e calcitriol. Linha contínua obtida por regressão linear.

indivíduos (47).

Como pode ver-se na Figura 3.2.12 as frações das cargas tubulares de cálcio e fósforo reabsorvidas são independentes das concentrações séricas de PTH. O efeito da PTH sobre as calciúrias e fosfatúrias poderia estar encoberto

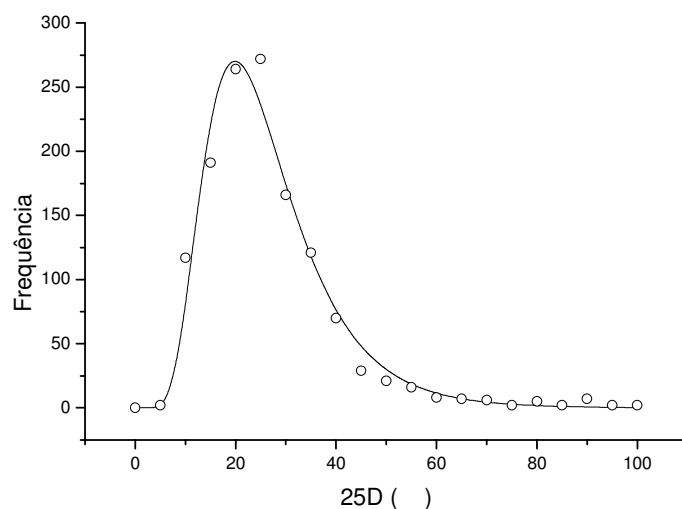


Figura 3.2.15. Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG.
Curva de distribuição de frequência 25-OH-Vit.D.

pelo efeito directo das concentrações séricas de cálcio ou calcitriol sobre a reabsorção tubular. As Figuras 3.2.13 (correlação = - 0.74) e 3.2.14 (coeficiente de correlação = -0.6) mostram que esta hipótese não se confirma.

Nos doentes estudados e sem atender à situação clínica, a curva de distribuição dos valores séricos de vit D_{25} é unimodal e log_normal (Figura 3.2.15).

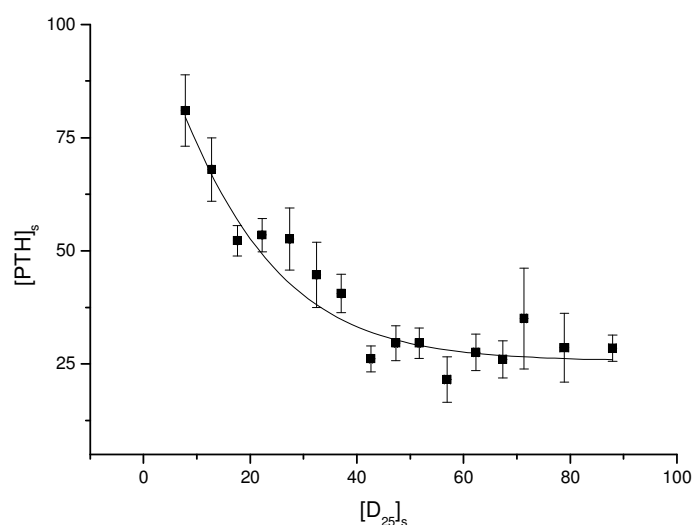


Figura 3.2.16. Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG.
Relação entre os valores (médias \pm e.p.m.) das concentrações séricas de PTH e 25-OH-Vit.D. A linha contínua representa uma correlação recíproca.

Existe uma nítida correlação negativa entre os valores séricos da vitamina D_{25} e da PTH ($R^2 = 0.898$) – Figura 3.2.16.

Na mesma população de indivíduos não foi possível detectar uma correlação clara entre os valores séricos de D_{25} e Calcitriol (Figura 3.2.17). Estas observações, no seu conjunto sugerem que o efeito da D_{25} se exerce directamente sobre a secreção de PTH.

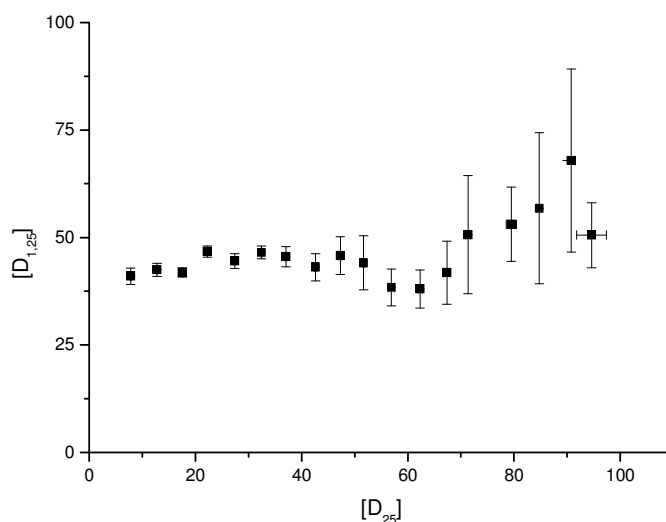


Figura 3.2.17 Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG. Relação entre os valores (médias \pm e.p.m.) das concentrações séricas de calcitriol e de 25-OH-Vit.D.

Averiguámos a variação sazonal das concentrações circulantes de D_{25} e

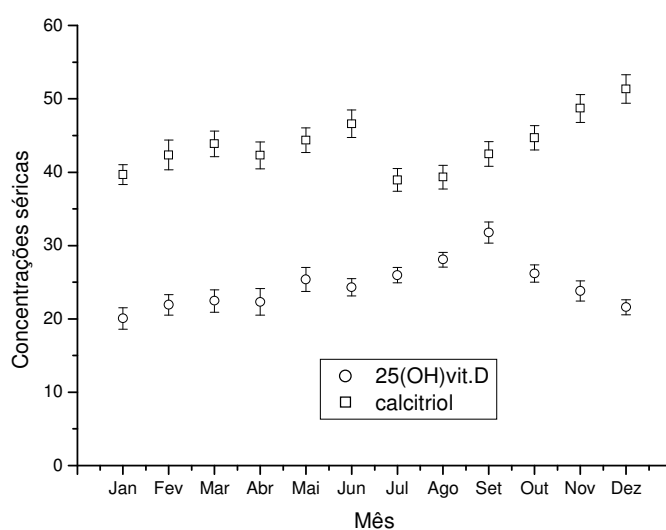


Figura 3.2.18 Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG. Distribuição sazonal dos valores (médias \pm e.p.m.) das concentrações séricas de calcitriol e de 25-OH-Vit.D.

de calcitriol, que devem reflectir as variações dos níveis de insolação. Os dados foram agrupados de acordo com o mês em que tinham sido feitas as colheitas para análise. Como pode ver - se na Figura 3.2.18 as concentrações de D_{25} tiveram valores de cerca de 20 ng/mL (48.6 nM) em Janeiro subiram gradualmente para atingir valores de 31,8 ng/mL (77.3 nM) em Setembro após o que voltaram a descer para valores de 21,6 ng/mL (52.5 nM) em Dezembro. As concentrações de calcitriol não exibiram uma periodicidade anual. A partir

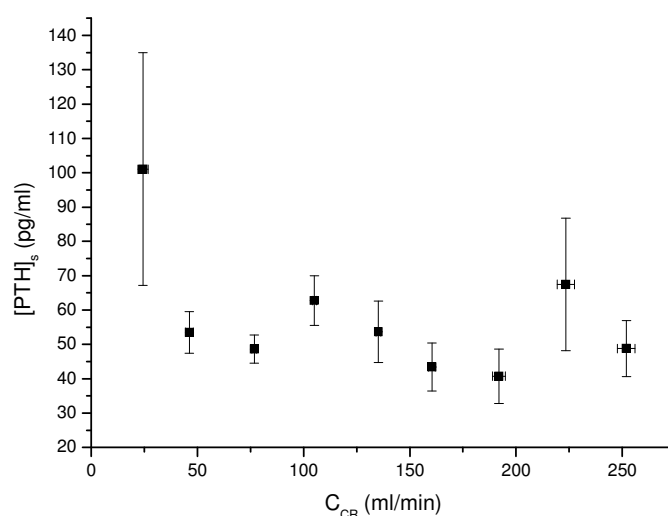


Figura 3.2.19 Grupo de doentes observados no SE_IPOFG. Relação entre os valores (médias \pm e.p.m.) das concentrações séricas de PTH e a depuração de creatinina (C_{Cr}) medida simultaneamente

de valores de 39,7 pg/mL (94.5 pM) em Janeiro subiram gradualmente até atingir valores de 46.6 pg/mL (111 pM) em Junho descenderam de novo até Agosto após o que subiram para alcançarem valores de 51.3 pg/mL (122 pM) em Dezembro.

Não foi possível demonstrar uma correlação entre as depurações de creatinina e as concentrações séricas de PTH (Figura 3.2.19).

3.3 ASSENTAMENTO DO MODELO MATEMÁTICO AOS VALORES LABORATORIAIS

Concluída a análise dos dados colhidos da casuística do Serviço de Endocrinologia do I.P.O.F.G.-C.R.O.L., S.A. (secção 3.2) interessava-nos a confrontação das relações encontradas entre as diferentes variáveis e simulações construídas a partir do nosso modelo matemático. Desta comparação poderia resultar uma concordância entre os dados experimentais e os valores obtidos por simulação o que significaria que as relações experimentais eram enquadráveis no modelo ou uma impossibilidade de ajustamento de curvas o que obrigaria a uma investigação das causas dessa disparidade.

Das relações descritas na Figura 3.2.3 construíram-se duas simulações. A primeira representa a curva de evolução das calcémias em função da PTH – calcémia dependente de PTH (Figura 3.3.1) e verifica-se um bom ajustamento da curva da simulação aos valores obtidos por análise dos dados do Laboratório.

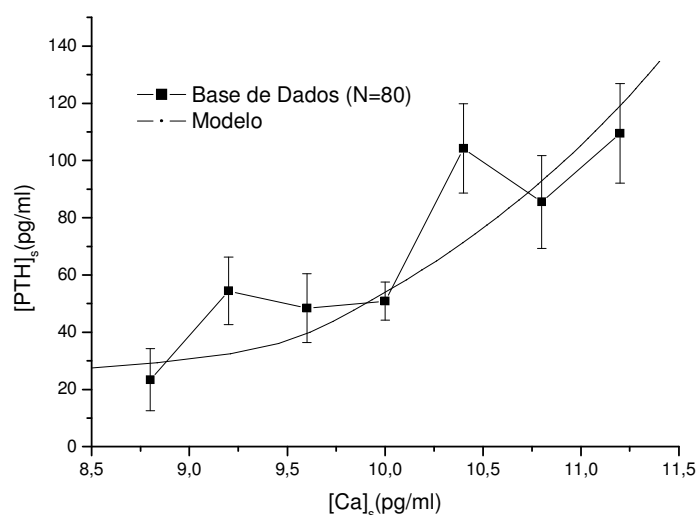


Figura 3.3.1. Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG. Relação entre os valores (médias \pm e.p.m.) das concentrações séricas de PTH e cálcio (quadrados pretos). Linha contínua obtida por simulação variando a concentração de PTH.

A segunda representa a curva de evolução de PTH em função das calcémias – calcémia independente da PTH (Figura 3.3.2). Também aqui se obteve uma boa aproximação entre a curva obtida por simulação e os valores analisados do Laboratório.

Foi possível demonstrar a dependência da secreção de Calcitriol em

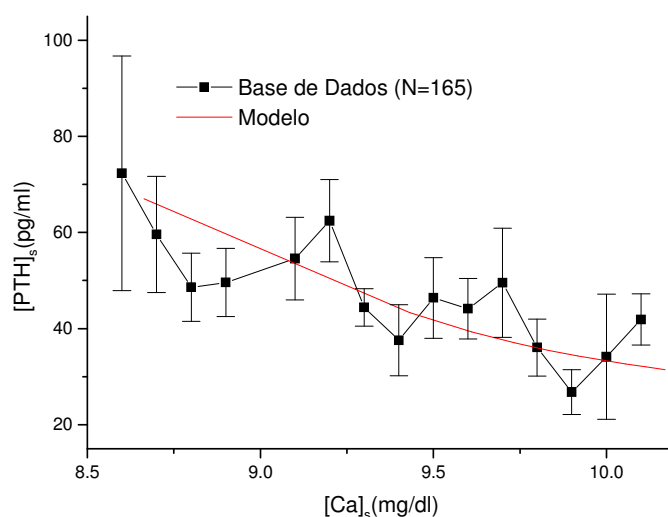


Figura 3.3.2. Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG. Relação entre os valores (médias \pm e.p.m.) das concentrações séricas de PTH e cálcio (quadrados pretos). Linha contínua obtida por simulação variando a calcémia.

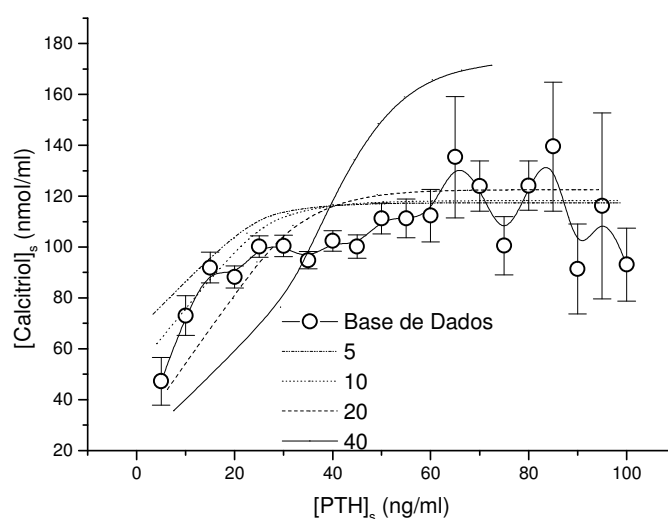


Figura 3.3.3 . Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG. Relação entre os valores (médias \pm e.p.m.) das concentrações séricas de PTH e calcitriol (círculos abertos). Linhas: simulações obtidas com infusões crônicas de PTH para diferentes afinidades da 1-hidroxilase à PTH.

relação à PTH (Figura 3.3.3) que é uma função sigmoide tal como foi

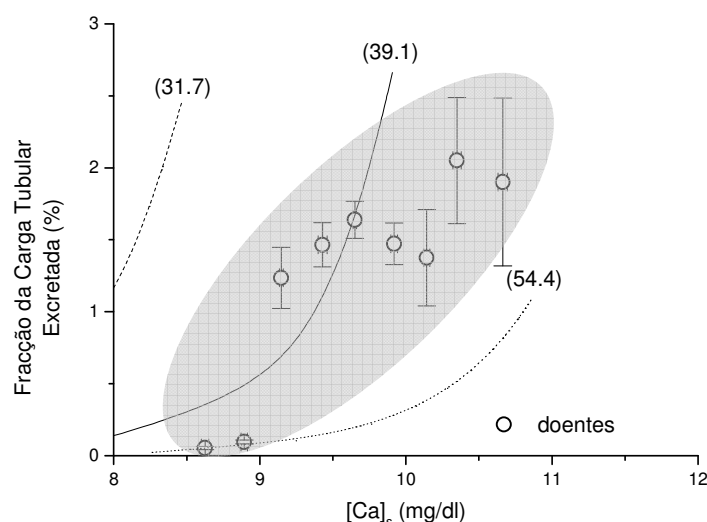


Figura 3.3.4 Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG (zona sombreada). Relação entre os valores (médias \pm e.p.m.) das concentrações séricas de cálcio e as fracções da carga tubular excretadas (círculos abertos). Linhas: simulações correspondentes a três valores da concentração sérica de PTH.

codificada no modelo. Na figura também estão representadas as simulações realizadas. As diferentes curvas correspondem a diferentes valores para a afinidade da 1-hidroxilase para PTH. A curva que melhor se adapta aos dados corresponde a uma afinidade de 10 ng/ml de PTH.

A curva que relaciona as calciúrias com as calcémias (Figura 3.3.4) não permite um juízo sobre a adequação do modelo. As três linhas são simulações de infusões de cálcio para concentrações basais de PTH diferentes (entre

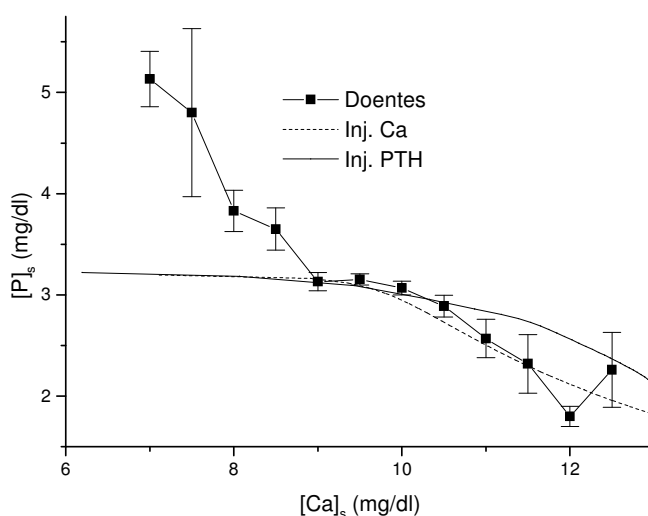


Figura 3.3.5 Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG. Relação entre os valores (médias \pm e.p.m.) das concentrações séricas de cálcio e de fósforo (quadrados pretos). Linhas: a tracejada simulação a partir de infusões crónicas de cálcio; contínua: simulação a partir de infusões crónicas de PTH.

parênteses). Os valores experimentais situam-se em torno da linha que

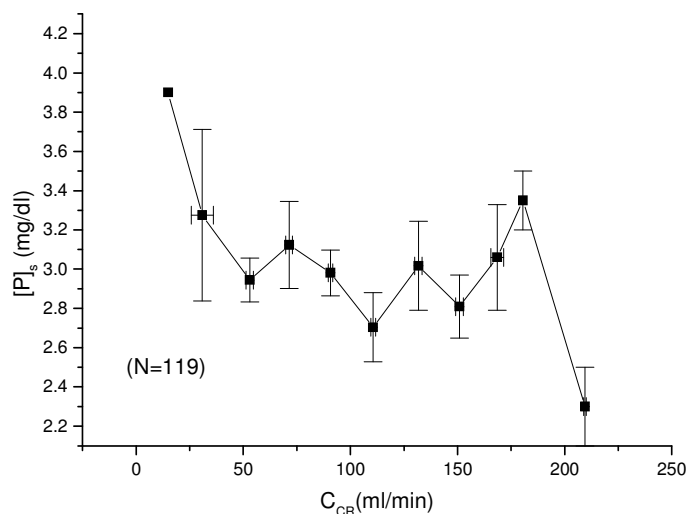


Figura 3.3.6 Grupo de doentes observados no SE_ IPOFG. Relação entre os valores (médias \pm e.p.m.) das concentrações séricas de fósforo e a depuração de creatinina (quadrados pretos).

corresponde aos valores normais de PTH. O número de doentes analisados foi reduzido pelo que não permitiu a constituição de subgrupos correspondentes a diferentes situações clínicas.

Para as concentrações séricas e excreções urinárias de fosfatos não foi possível obter o assentamento satisfatório de curvas simuladas sobre os valores obtidos a partir da base de dados

Na Figura 3.3.5 estão representados as concentrações séricas de cálcio e fósforo medidas nos doentes (pontos). Simultaneamente estão registadas as curvas obtidas por simulação de injeções de PTH (curva contínua) ou de cálcio (curva a tracejado). As simulações são satisfatórias para calcémias normais ou acima do normal mas afastam-se dos valores da base de dados para calcémias abaixo do normal.

Uma das possíveis razões destas discrepâncias seria a presença de insuficiência renal nos doentes com hiperfosforémia. A Figura 3.3.6 mostra a relação entre os valores da depuração de creatinina e da fosforémia em 119 doentes.

CAPÍTULO IV- DISCUSSÃO

4.1 IMPORTÂNCIA CLÍNICA DA ESCOLHA DO MODELO DE REGULAÇÃO DO CÁLCIO

Os modelos matemáticos ainda não são utilizados como instrumentos em que basear decisões clínicas (diagnóstico, prognóstico, risco, prevenção ou terapêutica) relativas a doentes individuais. A sua introdução na área das tecnologias médicas está a ser feita pela indústria farmacêutica em ensaios preliminares (em “pacientes virtuais”) do efeito de drogas em desenvolvimento, cujas acções foram estudadas em fragmentos de tecidos, em órgãos isolados ou em animais (148). É plausível que este seja o primeiro passo para um uso mais generalizado.

Os modelos matemáticos têm sido largamente usados em epidemiologia e saúde pública em geral. Também são úteis para simulações puramente conceptuais em que se pretenda prever as consequências possíveis de mecanismos fisiopatológicos, porque obrigam a uma formulação rigorosa das hipóteses e permitem uma análise detalhada da sua actuação.

Quando comparado com os outros mecanismos de regulação do sistema endócrino, o controlo da calcémia e dos balanços das trocas de cálcio com osso e com o ambiente é particularmente complexo pelo número de malhas de regulação (ver Figura 2.1.1) que resulta do envolvimento de vários factores reguladores (PTH, calcitriol, cálcio e fosfato) e órgãos alvo (rim, osso, intestino e paratiroideias).

Estas características dificultam o diagnóstico fisiopatológico das disfunções com expressão clínica porque a anomalia num dos componentes do sistema tem repercussões funcionais e eventualmente clínicas que a exprimem directamente mas que também reflectem a reacção dos restantes componentes. Um exemplo de grande importância prática no caso específico do metabolismo do cálcio é o das repercussões da insuficiência renal avançada acima descritas em que as perturbações na regulação da calciúria e na síntese de calcitriol têm importantes repercussões no funcionamento das glândulas paratiroideias e por intermédio destas em todos os órgãos alvo da PTH.

Na prática a complexidade do sistema torna-o inacessível a raciocínios simples.

A estratégia usada pelos engenheiros e pelos economistas, em particular a partir da segunda guerra mundial foi a construção de modelos globais quantitativos que são a simples transcrição matemática das relações funcionais entre os diferentes componentes de um sistema. Em vez de se dizer que o cálcio do CEC inibe a secreção de PTH esse efeito é descrito por um expressão analítica que relaciona as taxas de secreção com os valores da calcémia.

O primeiro passo na construção de um modelo é fazer o levantamento das observações (dados quantitativos) relativas ao sistema que se pretende simular.

A seguir será necessário proceder à identificação dos órgãos, tecidos e compartimentos do sistema, das variáveis observáveis (para as quais há valores publicados) e dos factores reguladores.

Os valores calculados das variáveis observáveis serão a ponte de ligação com a realidade (valores medidos).

Qualquer modelo consiste num conjunto de mecanismos (relações matemáticas entre variáveis) definidos por expressões matemáticas que contém uma ou mais constantes (parâmetros). As grandezas variáveis são de dois tipos: extrínsecas, quando podem ser manipuladas pelo observador (ingestão de cálcio) e intrínsecas quando são calculadas pelo modelo (calciúria).

A escolha dos componentes a incluir no modelo não é automática porque quanto mais complexo for mais difícil será observá-lo e interpretar os resultados que produz e sobretudo mais difícil será obter assentamentos não ambíguos²⁴ aos dados publicados, porque serão necessários muitos dados utilizáveis para o efeito.

A escolha do nível de complexidade é determinada por vários factores. O primeiro e mais importante é o que se pretende do modelo. Por exemplo, no caso do metabolismo do cálcio nós podemos estar interessados em respostas a curto, médio a longo prazo, no quadro metabólico ou neste e nas alterações ósseas.

²⁴ Para se perceber o significado de “*assentamento ambíguo*” basta imaginarmos que temos uma função com dois parâmetros (a e b), $Y = a + b \cdot x$ e que só temos um par de valores x_1/y_1 . Nestas condições há uma infinidade de valores de a e b que satisfazem a equação quando se substituem Y e X por y_1 , x_1 .

A seguir tem a maior importância a experiência clínica apoiada em evidência objectivável que permite identificar as fontes de dados de mais confiança.

Nesta fase tentam - se simular situações publicadas ajustando os valores dos parâmetros. Quando isso for impossível acrescentam – se novos componentes, mas só aqueles que forem necessários para se obterem simulações satisfatórias.

Um dos objectivos do modelo aqui apresentado é a análise de mecanismos de doença pelo que é necessário inventariar as doenças a analisar. Usámos dois critérios: a sua frequência ou, no caso de doenças raras, o facto de permitirem testar relações fundamentais.

Em clínica dá – se grande importância diagnóstica ao metabolismo dos fosfatos porque: a sua excreção urinária depende dos níveis circulantes de PTH e as taxas de secreção desta hormona dependem da fosforémia; as taxas de depósito ou de mobilização de fosfatos de cálcio são em parte determinadas pelas concentrações locais de fosfato e de cálcio e estas dependem em parte da calcémia e da fosforémia.

Ao contrário do que acontece com o cálcio que existe em pequeníssimas quantidades no CIC este compartimento desempenha um papel importante na regulação da fosforémia a curto prazo dada a participação dos fosfatos num grande número de processos metabólicos cuja taxa pode variar muito em função do esforço muscular, da temperatura corporal, ou das relações temporais com a ingestão de alimentos.

No modelo aqui apresentado só se contemplam simulações em que se modifica a ingestão ou a excreção urinária de fósforo. Não será muito complicado expandir a participação do compartimento intracelular modificando por exemplo as taxas de troca entre CIC e CEC.

4.1.1 O OSSO

O modelo é muito limitado na descrição do que se passa no osso porque o papel deste órgão no modelo na sua forma actual é a de um reservatório de cálcio rapidamente mobilizável. Não é possível simular perturbações a longo prazo em que uma fracção muito maior do cálcio ósseo participa porque como

veremos se restringiu severamente a quantidade deste elemento que pode ser mobilizada. A curto prazo (horas, dias) apenas 1% do cálcio ósseo é mobilizável, isto significa que enquanto não houver métodos que permitam medir com rigor (de 1 – 5%) variações em 1% da hidroxiapatite óssea (correspondendo a 1 a 5 /10000 do cálcio ósseo), esta não é uma variável observável para quem constrói modelos quantitativos.

A simulação de perturbações osseas mais arrastadas (semanas, meses, anos), que se traduzem clinicamente pelo aparecimento de alterações morfológicas grosseiras (osteopénia, osteoporose, quistos, malformações grosseiras do esqueleto) e em que quantidades muito maiores de cálcio podem ser mobilizadas levantam outros problemas uma vez que nessas situações a própria natureza do processo passa a ter uma componente biológica (não exclusivamente química) - activação da via *osteoblasto* → *osteoclasto* - que passa a ser dominante (149).

A representação matemática deste mecanismo terá de ser feita à maneira da acção do calcitriol sobre a absorção de cálcio no intestino ou seja introduzindo um passo intermediário cuja constante de tempo é ajustável independentemente.

Em resumo a fracção trocável do cálcio ósseo não é, para fins práticos, uma variável observável. Nasceu dos estudos de análise compartimental com cálcio radioactivo, que não podem ser reproduzidos na prática clínica.

4.1.2 MASSA SECRETORA DAS CÉLULAS PARATIROIDEIAS.

Na descrição da inibição da função paratiroideia apenas se considerou um efeito directo sobre a taxa de secreção de paratormona ou sobre a fracção activa da massa existente de glândula. Por falta de dados quantitativos não está representada a retro – acção negativa das concentrações circulantes de cálcio, fosfato ou calcitriol (6) na taxa de renovação celular. As simulações descritas na Figura 3.1.2.1.1 demonstram que o hiperparatiroidismo da insuficiência renal não pode ser simulado sem este mecanismo.

A médio prazo a inclusão de um ou mais mecanismos de multiplicação/desenvolvimento/morte celular e sua relação com taxas de

secreção será conveniente para se poder fazer uma simulação mais rigorosa dos quadros clínicos (150, 61,151).

4.2 TIPO DE MODELO

O modelo escolhido destina – se a simular dois tipos de situações.

Num primeiro tipo parte – se de uma situação estacionária, introduz – se uma modificação aguda em um ou mais parâmetros ou variáveis e calcula – se a evolução temporal do sistema. É um modelo dinâmico que como tal se caracteriza por estar centrado num núcleo de equações diferenciais que calculam as taxas de variação das variáveis em função dos seus valores instantâneos. Estas taxas por sua vez são usadas para calcular os valores instantâneos das variáveis respectivas. As curvas em função do tempo obtidas são depois comparadas com curvas publicadas.

Noutro tipo de simulações calculam – se valores estacionários de variáveis observáveis após perturbações de parâmetros em função dos valores desses parâmetros.

Como se trata de um sistema de grande complexidade e como não existe ainda informação suficiente para se poder fazer uma descrição global (“top down”) baseada em princípios gerais da física, da química e da biologia optou – se por construir um modelo a partir dos componentes (“bottom up”) prática correntemente adoptada na simulação de sistemas complexos (152).

Como já referimos a acção dos controladores (cálcio, fósforo, PTH e calcitriol) sobre efectores (glândulas paratiroideias, osso e rim, intestino) é descrita por funções. Ainda que a escolha destas funções possa parecer arbitrária ela respondeu a um certo número de questões elementares. Se o efeito se exerce por intermédio de receptores, exhibe saturação. Se na ausência do controlador (quando este estimula a função) ou na presença de quantidades saturantes (quando inibe a função) o effector está completamente inibido usou-se uma cinética de Michaelis – Menten. Se nestas condições existe função residual utilizou – se uma cinética sigmóide tendo – se escolhido a tangente hiperbólica por se prestar a uma interpretação muito intuitiva.

Quando o efeito de uma variável sobre um processo (concentração de cálcio no intestino e sua absorção por difusão) é por acção de massa utilizaram – se relações lineares.

Finalmente no caso específico das excreção renais de cálcio e fósforo decidiu –se escolher uma função simples de variáveis normalizadas que permitissem a representação por uma função única das situações normais e patológicas.

A terminologia usada pode mascarar o seu significado. A utilização do termo receptor, frequentemente usado em bioquímica e em farmacologia com um significado próprio, significa aqui o total do processo que começa na combinação com o substrato e acaba no efeito respectivo. Pode incluir um conjunto de processos como acontece nas cadeias metabólicas dos processos de segundo mensageiro.

A seguir à síntese do modelo, ou seja à construção de um conjunto de relações matemáticas que descrevem a resposta dos diferentes efectores aos controladores respectivos daí resultando os valores das diferentes variáveis intrínsecas será necessário escolher os valores dos parâmetros que façam com que os valores estacionários das variáveis intrínsecas correspondam aos encontrados numa população normal e também que as respostas no tempo a perturbações agudas – infusões de cálcio, PTH, calcitriol, etc. – sejam idênticas às encontradas (publicadas) em indivíduos normais. Só depois deste “assentamento” será razoável simular situações patológicas pela modificação de determinados parâmetros.

Infelizmente esta disciplina não pode ser seguida rigorosamente, pelo menos quando se está a construir o modelo, porque a quase totalidade dos trabalhos publicados não foi desenhada atendendo à estrutura global do sistema. Isto reflecte – se na escolha de variáveis estudadas, na distribuição temporal das amostragens e no controlo de factores que poderão influenciar a resposta à perturbação introduzida (infusão de cálcio, por exemplo). Em regra os trabalhos não relatam o estudo exaustivo de um indivíduo mas os valores médios obtidos numa população supostamente homogénea de indivíduos, o que impede um reprocessamento dos dados normalizando variáveis de modo a reduzir a sua dispersão. É desejável que, se o modelo acabar por ser aceite,

venha a influenciar no futuro o desenho das experiências utilizáveis na estimativa dos respectivos parâmetros.

Na fase actual o modelo está *sub – definido*²⁵. Isto significa que não há razões para se restringir a modificação da maioria dos parâmetros (ainda que não simultaneamente) quando simulamos experiências publicadas.

Em geral as disfunções chegam ao clínico numa fase quase estacionária, depois de um período de desenvolvimento insidioso e provavelmente prolongado durante o qual a alteração primária – um aumento de secreção da paratormona por exemplo – dá origem a disfunções secundárias – aumento da síntese de calcitriol - que por sua vez origina disfunções terciárias – aumento da absorção intestinal de cálcio - e influencia a disfunção primária. Em resumo o sistema como um todo vai reagir até cair num novo estado estacionário que não pode ser simplistamente explicado pela disfunção primária porque os diferentes componentes vão reagindo ao longo tempo com as suas sensibilidades e tempos de resposta próprios. O peso da contribuição de cada um dos componentes vai variar ao longo do tempo.

Das experiências agudas publicadas (Figuras 3.1.1.1 a 3.1.1.6) só as de Bourrel et al. (136) não puderam ser simuladas. Este insucesso não é surpreendente uma vez que nos resultados apresentados os valores médios da calcémia permaneceram constantes a despeito de uma redução muito marcada dos valores médios da concentração de paratormona circulante. As variações individuais poderão estar encobertas pela dispersão dos valores médios.

Foi possível simular os resultados de Attie et al.'s (137) mas convém acentuar que como as curvas de $J_{Ca(su)}/[Ca(s)]$ variam no tempo e esta variação não é fornecida no seu artigo o assentamento pode ser espúrio. A reprodução dos dados de Peacock (55) não é surpreendente uma vez que a cinética da calciúria foi construída a partir destes dados.

Por razões éticas, não é possível reproduzir experimentalmente as simulações de infusões crónicas de cálcio, paratormona ou calcitriol (Figura 3.1.3.1 e 3.1.3.2) em humanos, mas estas simulações são conceptualmente úteis porque podem fornecer pistas ao clínico. O principal objectivo destas

²⁵ A expressão *sub – definido* aplica-se a modelos incompletamente caracterizados. Ver nota de pé de pagina # 23

simulações é tornarem explícitos os mecanismos de regulação no indivíduo normal. Como pode ver –se nos painéis A – E da Figura 3.1.3.1 a resposta do sistema a uma infusão constante de cálcio é variável ao longo do tempo. A calcémia atinge um valor máximo por volta das 5 horas após o que baixa, voltando a subir muito lentamente até atingir um valor estacionário.

Se excluirmos as situações pós – cirúrgicas em que houve remoção total ou parcial das glândulas paratiroideias a maioria dos padrões bioquímicos resultantes de alterações do metabolismo do cálcio com que o clínico é confrontado têm três características:

- são quase estacionários;
- reflectem a carência ou excesso de um ou mais factores reguladores;
- reflectem uma alteração no ponto operacional de uma ou mais malhas de controlo resultantes do aumento ou diminuição do número ou afinidade de um ou mais receptores (para cálcio, paratormona ou calcitriol).

As simulações de infusões crónicas reproduzem apenas as duas primeiras características. Esta aparente limitação reflecte o facto de os valores instantâneos dos três controladores não poderem ser manipulados arbitrariamente por serem variáveis intrínsecas do sistema.

A caracterização funcional rigorosa das alterações do metabolismo do cálcio vistas na clínica terá de aguardar o aparecimento de protocolos experimentais baseados numa descrição quantitativa do sistema e de sondas moleculares que possam ser usadas na clínica assim como métodos de observação que permitam caracterizar *in vivo* com mais rigor certas facetas (a quantidade de cálcio no osso) do sistema.

Não é plausível que as situações de hipercalcémia (por exemplo) resultem do *desaparecimento* da regulação do metabolismo do cálcio. Se isso acontecesse seria de esperar que a calcémia variasse constantemente ao sabor das ingestões e das calciúrias. Muito provavelmente as disfunções da homeostase do cálcio reflectem um desvio de um ou mais dos seus pontos operacionais como consequência de aumentos ou diminuições na sensibilidade ou número de um ou mais receptores para os factores controladores (cálcio, fosfato, paratormona ou calcitriol).

As simulações descritas nas Figuras 3.1.2.1 a 3.1.2.8 ilustram esta filosofia. Os resultados quantitativos terão de ser usados com cautela uma vez que apenas são indicadores do que pode acontecer.

Uma das aplicações mais úteis do modelo é a análise de mecanismos fisiopatológicos (ver Tabela 2).

Tabela 2 – Fisiopatologia das alterações do metabolismo do cálcio

		Quadro Clínico	Parâmetro do Modelo
Receptor de PTH	Activado	Doença de Jansen	$X_R(e/PTH)$
	Inibido	Pseudohipoparatiroidismo	$X_R(o/PTH)$
Receptor de Ca	Activado	Hipocalcémia autossómica dominante	$X_R(Ca(r)/Ca)$ $X_R(PT/Ca)$
	Inibido	Hipercalcémia hipocalciúrica familiar Hiperparatiroidismo neonatal grave	
Receptor de calcitriol	Activado		$X_R(E/PTH)$
	Inibido	Raquitismo dependente da vitamina D – tipo 2	
Massa secretora de PTH	Aumentada	Hiperparatiroidismo primário	
	Diminuída	Hipoparatiroidismo	
Massa tubular renal	Aumentada		
	Diminuída	Insuficiência renal crónica	

Um bom exemplo disso foi a tentativa de simular as perturbações do metabolismo do cálcio nas insuficiências renais crónicas. Se atendermos à estrutura do modelo é fácil identificar uma fisiopatologia plausível: a insuficiência renal tem duas consequências óbvias: uma baixa da carga tubular de cálcio resultante da diminuição da taxa de filtração e uma diminuição da síntese de calcitriol. As restantes alterações são repercussões destas perturbações. Repetidas simulações mostraram que seria necessário incluir um factor adicional, o aumento da massa secretória das células paratiroideias para se obter um assentamento satisfatório sobre os dados da literatura. Por outro

lado este mecanismo adicional está de acordo com evidência na literatura (153).

Ao explicitar os diferentes mecanismos responsáveis pela regulação da calcémia o modelo possibilita a elaboração de um inventário possível das disfunções dessa regulação. Consequentemente simulações dessas disfunções permitem não só elaborar os padrões bioquímicos para cada mecanismo alterado como a sua importância relativa., No caso da calcémia é possível estudar a sua sensibilidade a perturbações introduzidas em cada uma das ansas do sistema de regulação.

As Figuras 3.1.2.1 a 3.1.2.14 exemplificam exercícios deste tipo. Para se poderem comparar os diferentes mecanismos os parâmetros modificados e as variáveis são representados nos gráficos pelos seus valores normalizados em relação aos de referência. Nestas figuras estão representados os valores das calcémias em simulações em que se diminuiu a afinidade ou a sensibilidade das glândulas paratiroideias à acção inibidora da calcémia ou do calcitriol circulantes ou se aumentou a massa secretora destas glândulas. Como pode ver – se a calcémia responde de uma maneira quantitativamente diferente a perturbações isoladas nestes diferentes mecanismos.

4.3 ANÁLISE DE UMA POPULAÇÃO DE DOENTES

A distribuição global por idades é bimodal. O lobo inferior deve-se a uma população de doentes jovens sujeitos a transplante de medula. São doentes que sofreram irradiação total de que resultaram disfunções múltiplas.

A distribuição dos doentes por grupos de diagnóstico mostrou que as médias das concentrações séricas de cálcio variaram muito pouco de doença para doença sugerindo que mesmo em situações patológicas as concentrações de cálcio são reguladas e que consequentemente se excluirmos os hiperparatiroidismos secundários e os hipoparatiroidismos pós-cirúrgicos têm um reduzido valor para o diagnóstico diferencial. As concentrações séricas de PTH exibiram as maiores variações indicando o papel dominante desta hormona como factor controlador.

As principais variáveis observáveis (concentrações séricas de Ca, P, PTH e calcitriol e excreções urinárias de Ca e P) distribuíram-se de acordo com

distribuições normais (Ca, P e calcitriol e excreção urinária e P) ou lognormais (PTH e excreção urinária de Ca).

Este comportamento sugere que podemos tratar estas sub populações (correspondentes aos diferentes diagnósticos) como homogéneas o que justifica que para cada grupo diagnósticos (se tiver uma dimensão apropriada) se tentem correlações entre as diferentes variáveis.

Com o objectivo de fazer sobressair correlações subjacentes fez - se uma análise separada dos dados obtidos em indivíduos em que foram feitas repetidas análises laboratoriais. Em princípio a correlação entre as concentrações séricas de Ca e PTH podem ser de dois tipos: negativa se o controlador dominante é a calcémia e positiva quando a secreção de PTH está parcial ou totalmente autónoma em relação à calcémia. Estes dois tipos de comportamento podem observar-se na Figura 3.2.3. Dada a dispersão dos valores as correlações obtidas não são mais do que indicadores semi-quantitativos de tendências. Não é plausível que as correlações encontradas se devam a erros laboratoriais que em princípio geram dispersões aleatórias ou desvios sistemáticos. É de esperar que para cada doente as relações entre cálcio e PTH séricos expressem a relação funcional entre estas duas grandezas. As tendências encontradas sugerem que o estudo das correlações entre PTH e calcémia apoiada em simulações é uma ferramenta potencialmente útil na caracterização fisiopatológica das hipercalcémias e poderá ser usado na estimativa dos parâmetros do modelo.

A relação entre a calcémia e a fracção reabsorvida da carga tubular (Figura 3.2.5) tem o comportamento esperado, diminuindo para as calcémias elevadas. Fizeram-se simulações desta curva, simulando a infusão de cálcio ou de PTH. Os resultados obtidos sugerem que o factor dominante nestes doentes foi a taxa de secreção de PTH.

Como os quadros bioquímicos das perturbações do metabolismo do cálcio resultam de mecanismos fisiopatológicos diferentes, é legítimo perguntar se ocorrem padrões das variáveis observáveis (valores séricos de Ca, P, PTH, calcitriol, calciúrias e fosfatúrias) característicos de cada uma das situações patológicas. Os resultados apresentados na Figura 3.2.6 mostram que as variáveis que permitem melhor separação dos diferentes quadros bioquímicos são as concentrações séricas de PTH, calcitriol, cálcio e eventualmente fosfato

A figura tri-dimensional 3.2.7 é o resultado desta análise. É possível separar claramente quatro grupos de indivíduos: normais, hiperparatiroidismos primários e secundários e hipoparatiroidismos pós-cirúrgicos. O localização dos outros grupos deve considerar-se como provisória dadas as reduzidas dimensões desses grupos.

As Figuras 3.2.9 e 3.2.10 ilustram aspectos práticos do tipo de análise que temos vindo a descrever. Ambas as figuras representam a relação entre as concentrações séricas de PTH e calcitriol. Enquanto que nos indivíduos normais não foi possível observar qualquer correlação calcitriol/PTH séricos a 3.2.10 mostra que isso aconteceu por que nos indivíduos normais a PTH sérica está em concentrações saturantes em relação ao seu efeito sobre a síntese de calcitriol observando-se 50% do valor saturante para uma concentração de 7.7 pg/mL (0.85 pM) de PTH.

Como conciliar estas observações com a constatação de que as médias das concentrações séricas de calcitriol em hiperparatiroidismos primários são estatisticamente diferentes ($p < 0.005$) e superiores aos valores médios dos indivíduos normais? Na figura 3.2.10 a população de indivíduos normais é muito maior ($N = 208$) do que a de indivíduos com hiperparatiroidismo primário ($N = 68$) pelo que para os valores em torno da média normal a curva está dominada pela população dos normais. Pode constatar-se que para valores de [PTH] superiores a 40 pg/ml a dispersão das concentrações de [calcitriol] aumenta muito e exhibe uma clara tendência a afastar-se da concentração saturante. Este comportamento pode reflectir não uma mudança da afinidade do receptor para PTH mas um aumento da quantidade total de hidroxilase renal.²⁶

O painel B da Figura 3.2.11 mostra uma correlação negativa entre calcémia e fosforémia que seria de prever a partir das acções da PTH sobre o tubo renal. Ao contrário do painel B, o painel A não é interpretável a partir das acções conhecidas da PTH (88): estimula a fosfatúria e diminui a calciúria. É possível que para as calcémias elevadas o aumento da carga tubular de cálcio encubra o eventual aumento da sua reabsorção.

Uma análise destes resultados implica a determinação das cargas tubulares de cálcio e fósforo o que só pôde ser feito num pequeno número de indivíduos (47). A Figura 3.2.12 mostra que as fracções das cargas tubulares de cálcio e fósforo reabsorvidas são independentes das concentrações séricas de PTH. O efeito da PTH sobre as calciúrias e fosfatúrias poderia estar encoberto pelo efeito directo das concentrações séricas de cálcio ou calcitriol sobre a reabsorção tubular. As Figuras 3.2.13 (correlação linear = - 0.74) e 3.2.14 (correlação linear = -0.6) mostram que esta hipótese não se confirma.

Houve uma nítida correlação negativa entre os valores séricos da vit D₂₅ e da PTH ($R^2 = 0.898$) – Figura 3.2.16 mas não houve correlação entre os valores séricos de D₂₅ e Calcitriol (Figura 3.2.17). Estas observações, no seu conjunto sugerem que o efeito da D₂₅ se exerce directamente sobre a secreção de PTH.

Ao contrário das concentrações séricas de calcitriol as de D₂₅ exibiram uma nítida variação cíclica ao longo do ano que reflectem muito provavelmente os níveis de insolação. Não foi possível demonstrar uma correlação entre as depurações de creatinina e as concentrações séricas de PTH (Figura 3.2.19) muito provavelmente porque a base de dados não incluía um número suficiente de doentes com insuficiência renal avançada.

4.4 CONSIDERAÇÕES GERAIS

A construção do modelo de um sistema parte da identificação prévia das suas *variáveis observáveis* ou seja das grandezas escolhidas para caracterizar o seu comportamento. Esta escolha que é em parte determinada pela nossa capacidade de medir constrange à partida o tipo de perguntas a que o modelo pode responder.

Há na literatura modelos matemáticos do metabolismo do cálcio destinados a simular oscilações espontâneas da sua concentração no CEC (154,155,156), ou as relações entre o conteúdo em cálcio do osso e a sua homeostase (157, 158, 159, 160, 161) ou ainda experiências em que se usa

²⁶ Convém lembrar que a cinética da dependência da síntese de calcitriol em relação à PTH reflecte a activação da enzima pré-existente. Este efeito é diferente do resultante de um aumento de enzima mantendo a mesma percentagem de enzima activada.

cálcio radioactivo para traçar as trocas do cálcio entre vários compartimentos (162, 163, 164).

O modelo que aqui se apresenta tem semelhanças com os que foram desenvolvidos para o pinto por Hurwitz e colaboradores (165, 166, 167), foi construído a partir dos componentes, uma estratégia conhecida por “bottom – up “ na literatura anglo – saxónica.

Por componentes entendem – se as descrições cinéticas publicadas dos processos mais relevantes (acções de variáveis controladoras) de que é um exemplo a descrição analítica das relações entre a concentração circulante de cálcio livre e a taxa de secreção de paratormona (57,168), ou descrições de cinéticas plausíveis para processos que ainda não foram estudados quantitativamente. Estes componentes são integrados em malhas de controlo de retro ou de antero – alimentação. A adição de componentes novos foi determinada ou pela necessidade de simular padrões bioquímicos de experiências publicadas realizadas em humanos ou pela necessidade de simular os padrões bioquímicos comumente aceites como característicos de quadros clínicos resultantes de disfunções na regulação do metabolismo do cálcio.

Até este momento não houve necessidade de incluir outros factores citados na literatura de que são exemplos hormonas sexuais (androgénios e estradiol) e o magnésio, mas a estratégia que foi utilizada comporta expansões sem alterações apreciáveis no programa de cálculo.

Por razões que já descrevemos, na sua forma actual não há um grupo único de parâmetros que permita simular todas as situações publicadas, clínicas ou experimentais.

A construção do modelo baseou – se na identificação de informação relevante publicada. Tal como acontece frequentemente em muitas áreas da medicina uma grande parte da evidência é colhida noutras espécies animais partindo – se do princípio que a evolução foi conservadora nos seus processos de selecção. Esta estratégia tem uma importância comprovada quando se trata de estudar mecanismos gerais da biologia que nos permitem compreender “em princípio” muitos processos da fisiologia e da patologia humanas. Todavia quando se trata de elaborar descrições quantitativas que podem ser o ponto de partida para previsões envolve riscos consideráveis porque além de eventuais

características de espécie há outros problemas como sejam por exemplo, as dimensões dos sistemas.

A metodologia usada não difere muito da medicina baseada na evidência. Pareceu-nos mais prudente restringir as nossas fontes a estudos realizados em humanos o que limitou muito o volume de dados a que recorreremos. Também foi preciso atender às técnicas usadas na colheita de dados na medida em que estas evoluíram muito nos últimos 30 anos.

O assentamento do modelo a observações publicadas foi em si um exercício de apreciável valor pedagógico porque nos obrigou a um rigor que de outra maneira não tinha cabimento e revelou frequentemente que o sistema se comportava de maneira que parecia contrariar a intuição. Tal como aconteceu em relação à insuficiência renal é de prever que um estudo mais exaustivo do modelo venha a revelar a necessidade de adicionar outras malhas reguladoras.

O número de situações que é possível imaginar e portanto simular é inesgotável e obriga a uma disciplina que elimine situações implausíveis.

O uso do modelo para prever ou explicar o que se passa em doentes individuais deve ser feito com cautelas uma vez que em princípio ele se deveria aplicar a um indivíduo médio - normal “perfeito” enquanto que na sua forma actual ele foi construído a partir de dados colhidos por diferentes investigadores em doentes ou grupos de pessoas (saudáveis ou doentes) diferentes.

Uma das evoluções possíveis e já em estudo dos modelos com aplicação clínica é a introdução de mecanismos adaptativos. Numa fase inicial o modelo “segue” a evolução de um certo número de variáveis observáveis num doente e vai modificando os seus parâmetros de acordo com estratégias numéricas de optimização que vão reduzindo as diferenças absolutas entre valores calculados e medidos dessas variáveis. É plausível que o modelo que aqui apresentamos possa constituir o núcleo central (*“kernel”*) de cálculo desses programas.

Pode perguntar – se se a deficiente preparação matemática dos médicos é um obstáculo intransponível ao uso de modelos matemáticos. Esta dificuldade depende da maneira como o médico que simula interage com o modelo. Se essa interacção implicar a concepção de passos de programação a iniciação pode ser lenta ou até inviável. Se apenas for necessário actuar em

menus acolhedores semelhantes aos usados em Windows não é de prever que haja grandes dificuldades uma vez que a experiência com estes Menus está hoje muito divulgada. Na sua versão actual o programa Madonna tem um formato intermédio mas muito próximo do do Windows. Fornece rotinas gráficas muito acessíveis e permite a exportação de tabelas de valores calculados para folhas de cálculo como o Excel. É de prever que seja acessível a muitos médicos.

O modelo é em si um produto de *congregações baseadas na evidência* uma vez que resulta da síntese num sistema coerente de um conjunto mínimo de dados e de descrições analíticas de processos quantificáveis. Por essa razão é uma ferramenta poderosa para a análise dos mecanismos gerais das disfunções do metabolismo do cálcio e para o desenho de experiências clínicas destinadas à caracterização fisiopatológica de doenças nesta área.

ANEXO I – FACTORES DE CONVERSÃO UTILIZADOS

Variável	S. Convencional	Factor de Conversão - X →	S. Internacional
[Ca]	mg/dL	0.25	mM
[P]	mg/dL	0.315	mM
[PTH]	pg/mL	0.11	pM
[calcitriol]	pg/mL	2.38	pM
[25(OH)vit D]	ng/mL	2.43	nM

ANEXO II – ABREVIATURAS UTILIZADAS

Abreviatura	Significado
[]	Concentração
1,25(OH) ₂ D	Calcitriol
Ca	Cálcio
CEC	Compartimento Extra-Celular
CIC	Compartimento Intra-Celular
CPT	Parenquima secretor de glandula paratiroideia
D	calcitriol
E	1 α -hidroxilase
HPLC	Cromatografia Gasosa de Alta Pressão
i	Intestino
IRMA	Ensaio Imunoradiométrico
J	Fluxo
o	Osso
P	Fosfato
PTH	Paratormona
PTHrP	Péptido relacionado com PTH
Q	Quantidade
r	Rim
RIA	Radioimuno ensaio
s	Soro
T	Transportadores

CONSTANTES MODELO BIJVOET	FLUXOS / VELOCIDADES	QUANTIDADES INICIAIS
Bij_Ca_A	FCa_DH_IS	INIT (QDH)
Bij_P_A	FCa_Dif_IS	INIT (QE)
Bij_Ca_B	FCa_PTH_OS	INIT fPTH_DH
Bij_P_B	FcaIS	INIT fTRACa
Bij_Ca_C	FcaSO	INIT QCaO
Bij_P_C	FcaSO_OS	INIT QCas
CtCa	FcaSU	INIT Qp
CtCa0	FE_PTH	INIT QPC
CTMPPTH	FCa_DH_IST	INIT QPO
CTP	FCaOS_D	INIT Qpth
CTP0	FCaOS_I	INIT Qv
CTPM	FE_DC	TAXAS
FXCa	FIN	K1P
FXCa0	FluxInt	K1TP
X	FPTH2	K2P
X	FSUP	K2TP
X0	PTH_DC	KDH
XCa	IngCa	Quantidades Iniciais
Y	INIB	QCaO0
FPTHCT	INIBCA	QCaS0
KPTH_CT	FRACÇÕES	QDH0
CONSTANTES ADIMENSIONAIS	fDH_I	QE0
ALI	fDH_D	Qp0
Alfa	fE_I	QPC0
AR	fE_D	QPO0
AR0	fPTH_D	QPTH0
Beta	fPTH_I	Qv0
G2	SENSIBILIDADES	RacPool
Gama	FCa_OS_S	Constantes de Tempo e taxas de reacção
Gama0	FCa_Dif_IS_S	Tau
GP	FPTH_Ca_S	TAU2
CONCENTRAÇÕES CORRENTES	FPTH_DH_S	TAUPM
Ccal	FE_S	TDH
CcaS	fTRACa_S	TE
CDHS	AMPLITUDES	Tm
CPS	FCa_DH_IS_A	TPTH
CPTHs	FCa_OS_A	TSO
EQUAÇÕES DIFERENCIAIS	FPTH_A	TTraTRACa1
d/dt (fPTH_DH)	FE_A	TTraTRACa2
d/dt (fTRACa)	Fca_OS_A_A	TTRPTH1
d/dt (QCaO)	FPTH_AA	TTRPTH10
d/dt (QCaS)	AFINIDADES ou REFERÊNCIAS	TTRPTH2
d/dt (QDH)	KICA	TTRPTH20
d/dt (QE)	KMIngCa	Volumes de distribuição
d/dt (QPO)	CDHS_R	VCa
d/dt (QPTH)	CDHS1_R	VDH
d/dt(Qp)	fTRACa_R	VP
d/dt(QPC)	FPTH_Ca_R	Vpth
d/dt(Qv)	FPTH_DH_R	
	FE_PTH_R	
	FCa_OS_R	
	QcaO_R	

Códigos de Abreviaturas

Tipo	Explicação
XYZ	X - tipo de quantidade (C oncentração) Y - Variável (C alcio) Z - compartimento (s oro)
d/dt (Y)	d/dt () - derivada em ordem ao tempo Y - quantidade total num compartimento
KYE	K - afinidade num processo tipo MM Y - tipo de processo (I nibição) E - substrato (C alcio)
F(f)E_D_R	F(f) - produção ou transporte (em valor absoluto ou como fracção) E - substrato (P TH) ou tipo de fluxo R - valor do substrato a 50% da respectiva curva cinética D - variável controladora do processo (C a)
kiE	ki - taxa de reacção ou de transporte E - substrato (P)
QEF	Q - quantidade E - Variável F - compartimento (s oro)
FE_G-H	F - fluxo ou velocidade de produção E - substrato (P TH) G - variável controladora H - sentido do fluxo (s oro -> o ssso)
E_DC	E - substrato DC - degradação
INIB	processo de inibição (tipo MM)
fX_Y_Z	f - fracção de um processo (entre 0 e 1) de síntese ou de transporte X - substrato Y - variável controladora Z - dependente (D) ou independente (I)
FE_G_S	F - transporte ou produção E - substrato (P TH) G - variável controladora S - sensibilidade à variável controladora
FE_G_A	F - transporte ou produção E - substrato (P TH) G - variável controladora A - amplitude máxima do processo
VX	V - espaço de distribuição em litros X - variável (C a)

ANEXO III – VERSÃO INFORMÁTICA DO MODELO MATEMÁTICO

METHOD AUTO

{TIME em horas}

STARTTIME = 0

STOPTIME = 1000

DTMAX= 0.1

DT = 0.1

DTOUT = 0.1

TOLERANCE=1e-4

Letras que designam variáveis

Ca - cálcio

PTH

DH - calcitriol

P - fósforo

Unidades usadas

Quantidade de Ca, P - mmoles

Quantidade de PTH - ng

Quantidade de calcitriol - ng

Concentrações de Ca e P - mM

Concentrações de PTH – ng/mL

Concentrações de calcitriol – ng/mL

Tempo (TIME)- horas

Fluxos de Ca e P - mmoles/hora

Secreção de PTH – ng/hora

Secreção de calcitriol – ng/hora

Volume - litros

Significado das letras iniciais:

Q - quantidade de uma variável num compartimento

F - fluxo ou velocidade de uma reacção

f - fracção

V - volume de um compartimento

C - concentração

K - afinidade ou taxa

0 - (zero) no fim de uma quantidade

significa valor no estado de referência

Significado de letras finais:

S - sensibilidade

R – afinidade

A – amplitude

I – Independente

D - Dependente

Significado de letra no meio da variável

a seguir a “_”: dependente de

Letras que representam os compartimentos ou órgãos alvo:

s - soro (ou sangue)

o - osso

c - citoplasma

u - urina

i - intestino

e - enzima de conversão

Orientação dos fluxos

OS - osso→ sangue

SO - sangue→ osso

SU - sangue→ urina

IS - intestino→ sangue

ROTINAS PARA PERTURBAÇÃO DO SISTEMA

As perturbações são saltos -

STEP(Val,START) - de amplitude = *Val*

com o início no tempo = *START*

Para evitar transições descontínuas os saltos são multiplicados por uma função exponencial - $(1-EXP(-K*AL))$ - atrasada de *START*.

AL= STEP(1,START)*(TIME-START)
 PERT= (STEP(Val,START)*(1-EXP(-100*AL)))
 Val= 0
 START= 2

{ESPAÇOS}

VCa= 14
 VDH= 14
 VPTH= 14
 VP= 14

{VALORES INICIAIS DAS VARIÁVEIS}

CCaS0= 2.4
 CDHS0= 90
 CPTH0= 35
 CPS0= 1.2
 CTP0= 1.05
 QCaS0= CCaS0*VCa

{CONCENTRAÇÕES CORRENTES}

CCaS= QCaS/Vca
 CPTH= QPTH/Vpth
 CDHS= QDH/VDH
 CPS= QPS/Vp

{TROCAS SANGUE-OSSO}

{constantes}

Beta= 1/1.67
 QCaO0= 100
 QCaO_R= 100
 FCa_OS_R= 35

FCa_OS_S= 0.05
 FCa_SO_OS= 3.3
 fCa_OS_I= 0.25
 fCa_OS_D= 1-fCa_OS_I
 T_SO= FCa_SO_OS/QCaS0

{valores de referência}

tanhE20= TANH(FCa_OS_S*(CPTH0-FCa_OS_R))
 FPTH0=
 (fCa_OS_D*(1+tanhE20)+fCa_OS_I)
 FCa_OS_A0=
 (2*CDHS0/(CDHS0+CDHS_R))*2*(QCaO0/(QCaO0+QCaO_R))
 FCa_OS_A_A=
 FCa_SO_OS/(FCa_OS_A0*FPTH0)
 FCa_PTH_OS0=
 FCa_OS_A0*FCa_OS_A_A*FPTH0

{valores correntes}

tanhE2= TANH(FCa_OS_S*(CPTH-FCa_OS_R))
 FCa_OS_A=
 (2*CDHS/(CDHS+CDHS_R))*2*(QCaO/(QCaO+QCaO_R))
 FCa_PTH_OS=
 FCa_OS_A_A*FCa_OS_A*(fCa_OS_D*(1+tanhE2)+fCa_OS_I)
 FCa_SO = T_SO*QCaS

{EXCREÇÃO URINÁRIA DE CÁLCIO}

{constantes}

Alfa= 0.5
 KCa_I= 2.4
 FCa_SU0= 0.21

{modelo Bijvoet}

ACa = 0.1779

$$BCa = 0.1482$$

$$CCa = 7.8011$$

{valores de referência}

$$FCa_SU_Ca_FCa_SU_Inib0 =$$

$$KCa_I^2 / (KCa_I + CCaS0)$$

$$FCa_SU_Inib0 =$$

$$Gama0 * FCa_SU_Ca_FCa_SU_Inib0$$

$$FXCa0 = FCa_SU0 / CCaS0$$

$$Gama0 = CDHS0^2 / (CDHS0 + CDHS_R)$$

$$CtCa0 = CCaS0 * (ACa / FXCa0 -$$

$$BCa)^{1/CCa}$$

$$FPTH_CT0 = CtCa0 / FCa_SU_Inib0$$

$$KPTH_CT = CPTH0 * (1.8 / (FPTH_CT0 - 1.95) - 1)$$

{valores correntes}

$$Gama = CDHS^2 / (CDHS + CDHS_R)$$

$$FCa_SU_Ca_Inib = 2 * KCa_I / (KCa_I + CCaS)$$

$$FCa_SU_Inib = Gama * FCa_SU_Ca_Inib$$

$$CtCa = FPTH_CT * FCa_SU_Inib$$

$$FPTH_CT = 1.95 + 1.8 * CPTH / (CPTH + KPTH_CT)$$

$$XCa = CtCa / CCaS$$

$$FXCa = (ACa / (BCa + XCa^{CCa}))$$

$$FCa_SU = CCaS * FXCa$$

{ABSORÇÃO INTESTINAL}

{constantes}

$$T_ACT_Trans_Int = 48$$

$$KMcA_Ing = 1$$

$$f_Act_Trans_Ca_Int_R = 90$$

$$FCa_Int = 0.3$$

$$IngCa0 = 1$$

$$f_Act_Trans_Ca_Int_S = 0.03$$

$$FCa_Dif_IS_S = 0.02$$

{cálculo da referência}

$$FCa_IS0 = FCa_SU0$$

$$IngCa = IngCa0$$

$$FCa_Dif_IS0 =$$

$$FCa_Dif_IS_S * (IngCa0 / FCa_Int - CCaS0)$$

$$FCa_DH_IS0 = FCa_IS0 - FCa_Dif_IS0$$

$$\tanh E40 =$$

$$TANH(f_Act_Trans_Ca_Int_S * (CDHS0 - f_Act_Trans_Ca_Int_R))$$

$$f_Act_Trans_Ca_Int0 = (1 + \tanh E40) / 2$$

$$FCa_DH_ISA =$$

$$(FCa_DH_IS0 * (IngCa0 + KMcA_Ing) / IngCa0) / f_Act_Trans_Ca_Int0$$

$$FCa_DH_IST =$$

$$FCa_DH_ISA * IngCa0 / ((IngCa0 + KMcA_Ing) * f_Act_Trans_Ca_Int0)$$

{cálculo dos valores correntes}

$$FCa_Dif_IS = FCa_Dif_IS_S * GradCa_IS$$

$$GradCa_IS = CCaI - CCaS$$

$$CCaI = IngCa / FCa_Int$$

$$FCa_DH_IS =$$

$$FCa_DH_ISA * IngCa / (IngCa + KMcA_Ing) * f_Act_Trans_Ca_Int$$

$$\tanh E4 = TANH($$

$$f_Act_Trans_Ca_Int_S * (CDHS - f_Act_Trans_Ca_Int_R))$$

$$FCa_IS = FCa_DH_IS + FCa_Dif_IS$$

$$Act_Trans_Ca_Int1 =$$

$$(1 + \tanh E4) / T_ACT_Trans_Int$$

$$Act_Trans_Ca_Int2 = (1 -$$

$$\tanh E4) / T_ACT_Trans_Int$$

{SECREÇÃO DE PTH}

{constantes}

$$T_ACT_Paratt2 = 100$$

$$fPTH_D = 0.85$$

$$T_PTH = 100$$

$$FPTH_DH_S = 0.03$$

$$FPTH_Ca_S = 0.7$$

FPTH_DH_R= 35

FPTH_Ca_R= 0.1

{cálculo da referência}

PTH_Dec0= CPTHS0*T_PTH

QPTH0= CPTHS0*VPTH

fPTH_I= 1-fPTH_D

fD_I= 1-fD_D

fD_I0= 1-fD_D0

Act_Cell_Parat10= (1-tanhE50)/T_ACT_Paratt2

Act_Cell_Parat20= (1+tanhE50)/T_ACT_Paratt2

fPTH_DH0=

Act_Cell_Parat10/(Act_Cell_Parat10 + Act_Cell_Parat20)

FPTH_A=

PTH_Dec0/(fPTH_DH0*fD_D0+fD_I0)

FPTH_GS0=

FPTH_A*(fPTH_DH0*fD_D0+fD_I0)*(fPTH_D*(1-tanhE10)*FPTH_A_A+fPTH_I)

tanhE10= TANH(FPTH_Ca_S*(CCaS0-FPTH_Ca_R))

FPTH_A_A= 1/(1-tanhE10)

tanhE50= TANH(FPTH_DH_S*(CDHS0-FPTH_DH_R))

{inibição por Ca}

tanhE1= TANH(FPTH_Ca_S*(CCaS0-FPTH_Ca_R))

{inibição por calcitriol}

tanhE5= TANH(fPTH_DH_S*(CDHS0-fPTH_DH_R))

Act_Cell_Parat1= (1-tanhE5)/T_ACT_Paratt2

Act_Cell_Parat2= (1+tanhE5)/T_ACT_Paratt2

{cálculo dos valores correntes}

FPTH_GS=

(FPTH_A*(fPTH_DH*fD_D+fD_I)*(fPTH_D*(1-tanhE1)*FPTH_A_A+fPTH_I))*PERT2

FPTH_GS1=

(FPTH_A*(fPTH_DH0*fD_D+fD_I)*(fPTH_D*(1-tanhE10)*FPTH_A_A+fPTH_I))

PTH_Dec= CPTHS*T_PTH

FDEP= (1-tanhE1)*FPTH_A_A

FPTH1=(fPTH_D*FDEP+fPTH_I)

FPTH2= FPTH_A*(fPTH_DH*fD_D+fD_I)

{ACTIVIDADE DA ENZIMA DE CONVERSÃO E CALCITRIOL}

{constantes}

FE_PTH_R= 40

CDHS_R= 90

FE_S= 0.061

T_DH= 0.1

T_E= 0.05

FE_D= 0.85

fD_D0= 0.8

KDH= 90

FE_I= 1-FE_D

{cálculo da referência}

tanhE30= TANH(FE_S*(CPTHS0-FE_PTH_R))

FE_PTH0= QE0*T_E

FE_A=

FE_PTH0/((FE_D*(1+tanhE30)+FE_I)*KDH/(KDH+CDHS0))

{CALCITRIOL}

{cálculo da referência}

QDH0= CDHS0*VDH

QE0= T_DH*QDH0

{valores correntes}

$\tanh E3 = \text{TANH}(\text{FE_S} * (\text{CPTH} - \text{FE_PTH_R}))$
 $\text{FE_PTH} =$
 $\text{FE_A} * (\text{FE_D} * (1 + \tanh E3) + \text{FE_I}) * \text{KDH} / (\text{KDH} + \text{CDHS})$
 $\text{FE_Dec} = \text{QE} * \text{T_E}$

{METABOLISMO DOS FOSFATOS}**{constantes}**

$\text{GP} = 1$
 $\text{SMO} = 10$
 $\text{RacPool} = 200$
 $\text{KP_PTH} = 35$
 $\text{G2} = 20$
 $\text{K2TP} = 2.0$
 $\text{T_ACT_Trans_P} = 0.01$

{cálculo da referência}**{Bijvoet}**

$\text{FP_SU0} = 7.2 * \text{CPS0} * (\text{AF} * \text{EXP}(-\text{BF} * (\text{X0} - \text{CF})))$
 $\text{FIN} = \text{FP_SU0}$
 $\text{fD_D} = \text{fD_D0}$
 $\text{AR0} = \text{GP} * (\text{FIN} - \text{FP_SU0})$
 $\text{Qv0} = (1 + \text{TANH}(\text{AR0})) / 2$
 $\text{QPC0} = \text{RacPool} * \text{QP0}$
 $\text{Qp0} = \text{VP} * \text{CPS0}$
 $\text{QPO0} = \text{BETA} * \text{QCaO0}$
 $\text{K1TP} = \text{K2TP} * \text{CPS0} / \text{QPC0}$
 $\text{FP_SO0} = \text{beta} * \text{FCa_PTH_OS0}$

{valores correntes}

$\text{FIN1} = \text{FIN}$
 $\text{AR} = \text{GP} * (\text{FIN1} - \text{FP_SU})$ {Argumento da função que ajusta balanço externo}
 $\text{SATUR} = \text{TANH}(\text{AR})$
 $\text{K1P} = \text{T_ACT_Trans_P} * (1 - \text{TANH}(\text{AR}))$

$\text{ExtBal} = \text{FIN1} - \text{FP_SU}$

{do balanço externo instantâneo}

$\text{K2P} = \text{T_ACT_Trans_P} * (1 + \text{TANH}(\text{AR}))$

{modelo bijvoet}**{constantes}**

$\text{AF} = 0.3322$
 $\text{BF} = 3.8163$
 $\text{CF} = 0.6617$

{cálculo da referência}

$\text{X0} = \text{CTP0} / \text{CPS0}$
 $\text{CTPM} =$
 $\text{CTP0} / (\text{Qv0} * (2 * \text{KP_PTH} / (\text{KP_PTH} + \text{CPTH} - 0)))$

{valores correntes}

$\text{X} = \text{CTP} / \text{CPS}$
 $\text{Y} = 1 - \text{FP_SU} / \text{CPS}$
 $\text{CTP} =$
 $\text{CTPM} * \text{Qv} * (2 * \text{KP_PTH} / (\text{KP_PTH} + \text{CPTH}))$

{Ajuste do TM}

$\text{CPS} = \text{Qp} / \text{VP}$

{Update da Concentração plasmática}

$\text{CTMPH} = (2 * \text{KP_PTH} / (\text{KP_PTH} + \text{CPTH}))$
 $\text{X} = \text{CTP} / \text{CPS}$
 $\text{FP_SU} = \text{IF } \text{X} < 0.8 \text{ THEN } 7.2 * \text{CPS} * (1 - \text{X})$
 $\text{ELSE } 7.2 * \text{CPS} * (\text{AF} * \text{EXP}(-\text{BF} * (\text{X} - \text{CF})))$

{EQUAÇÕES DIFERENCIAIS}

$d/dt (\text{QCaS}) = \text{FCa_PTH_OS} - \text{FCa_SO} - \text{FCa_SU} + \text{FCa_IS}$

$d/dt (\text{QPTH}) = \text{FPTH_GS} - \text{PTH_Dec}$

$d/dt (\text{QCaO}) = \text{FCa_SO} - \text{FCa_PTH_OS}$

$d/dt (\text{QCa}) = \text{FCa_PTH_OS} - \text{FCa_SO} - \text{FCa_SU} + \text{FCa_IS}$ {QCa é a soma de QCaS, QCaO e QCaIS}

$$d/dt (QDH) = QE - T_DH * QDH$$

$$d/dt (f_Act_Trans_Ca_Int) = (1 - f_Act_Trans_Ca_Int) * Act_Trans_Ca_Int1 - f_Act_Trans_Ca_Int * Act_Trans_Ca_Int2$$

$$d/dt (fPTH_DH) = (1 - fPTH_DH) * Act_Cell_Parat1 - fPTH_DH * Act_Cell_Parat2$$

$$d/dt(Qp) = (FIN1 - FP_SU) - (K2TP * CPS - K1TP * QPC) - (FCa_SO * beta - beta * FCa_PTH_OS)$$

$$d/dt(Qv) = G2 * ((1 - Qv) * K1P - Qv * K2P)$$

$$d/dt(QPC) = K2TP * CPS - K1TP * QPC$$

$$d/dt (QPO) = (FCa_SO * beta - beta * FCa_PTH_OS)$$

{CONDIÇÕES INICIAIS}

INIT QPTH = QPTH0
 INIT QCas = QCas0
 INIT QCaO = QCaO0
 INIT (QE) = QE0
 INIT (QDH) = QDH0
 INIT f_Act_Trans_Ca_Int = f_Act_Trans_Ca_Int0
 INIT fPTH_DH = fPTH_DH0
 INIT Qp = Qp0

INIT QPC = QPC0
 INIT QPO = QPO0
 INIT Qv = Qv0

{SECÇÃO DE DEBUGGING}

{EBI0 = FCa_PTH_OS0 - FCa_SO_OS
 EBI = FCa_PTH_OS - FCa_SO
 EBE = -FCa_SU + FCa_IS
 EBT = +EBI + EBE
 EBPTH = FPTH_GS - PTH_Dec
 EBENZ = FE_PTH - FE_Dec
 EBTIM = (1 - f_Act_Trans_Ca_Int) * Act_Trans_Ca_Int1 - f_Act_Trans_Ca_Int * Act_Trans_Ca_Int2
 EBFPTH_DH = (1 - fPTH_DH) * Act_Cell_Parat1 - fPTH_DH * Act_Cell_Parat2
 BALp0 = FIN1 - FP_SU0
 BALPi = FIN1 - FP_SU
 BALv = (1 - Qv) * K1P - Qv * K2P
 BALQp = (FIN1 - FP_SU) - (K2TP * CPS - K1TP * QPC) - (FCa_SO * beta - beta * FCa_PTH_OS)
 BALCELL = (K2TP * CPS - K1TP * QPC)
 BALOSSO = (FCa_SO * beta - beta * FCa_PTH_OS) }

O software Madonna utilizado nas simulações descritas neste trabalho está disponível na Internet em www.berkeleymadonna.com. Pode ser usada a versão de prova em que podem ser utilizadas todas as funcionalidades do programa excepto guardar alterações e impressão de gráficos.

ANEXO IV - VALORES DE CONTROLO DAS VARIÁVEIS E PARÂMETROS NO ESTADO DE REFERÊNCIA

	VARIÁVEIS E PARÂMETROS	VALORES	UNIDADES	VALORES	UNIDADES
Concentrações	$C_{Ca(s)}$	2.4	mM	9.6	mg.dL ⁻¹
	$C_{P(s)}$	1.2	mM	3.7	mg.dL ⁻¹
	$C_{PTH(s)}$	3.85	pmol.L ⁻¹	35	pg.mL ⁻¹
	$C_{D(s)}$	90	pmol.L ⁻¹	37.5	pg.mL ⁻¹
Pools	$Q_{Ca(b)}$	100	mmol	4000	mg
	$Q_{P(c)}$	3226	mmol	100000	mg
Taxas	k_{PTH}	7.14	hr ⁻¹	7.14	hr ⁻¹
	k_E	0.05	hr ⁻¹	0.05	hr ⁻¹
	k_D	0.1	hr ⁻¹	0.1	hr ⁻¹
	$Y_i(D_{(s)})_{1 \vee Max}$	0.02	hr ⁻¹	0.02	hr ⁻¹
	$Y_{PT}(D_{(s)})_{1 \vee Max}$	0.01	hr ⁻¹	0.01	hr ⁻¹
	$Y_k(J_{Ext})_{1 \vee Max}$	0.01	hr ⁻¹	0.01	hr ⁻¹
	$k_{Ca(i)}$	0.0002	L. hr ⁻¹	0.002	dL. hr ⁻¹
	$k_{4,P}$	51.8	L. hr ⁻¹	518	dL. hr ⁻¹
Sensibilidades	$b(PTH/Ca)$	0.05	L.mmol ⁻¹	0.18	dL.mg ⁻¹
	$b(PTH/D)$	0.03	L.pmol ⁻¹	0.07	mL.pg ⁻¹
	$b(e/PTH)$	0.55	L.pmol ⁻¹	0.061	mL.pg ⁻¹
	$b(b/PTH)$	0.45	L.pmol ⁻¹	0.05	mL.pg ⁻¹
	$b(i/D)$	0.03	L.pmol ⁻¹	0.07	mL.pg ⁻¹
Afinidades	$X_R(PTH/Ca)$	1	mM	4	mg. dL
	$X_R(PTH/D)$	90	pmol.L	37.5	pg.mL
	$X_R(e/PTH)$	3.85	pmol.L	35	pg.mL
	$X_R(e/D)$	90	pmol.L	37.5	pg.mL
	$X_R(o/PTH)$	3.85	pmol.L	35	pg.mL
	$X_R(i/D)$	90	pmol.L	37.5	pg.mL
	$X_R(i/Ca)$	1	mM	4	mg. dL ⁻¹
	$X_R(o/Ca)$	2.4	mM	9.6	mg. dL ⁻¹
	$X_R(o/D)$	90	pmol.L ⁻¹	37.5	pg.mL ⁻¹
	$X_R(Ca_{(r)}/D)$	90	pmol.L ⁻¹	37.5	pg.mL ⁻¹
	$X_R(Ca_{(r)}/Ca)$	2.4	mM	9.6	mg. dL ⁻¹
	$X_R(Ca_{(r)}/PTH)$	3.85	pmol.L ⁻¹	35	pg.mL ⁻¹
	$X_R(P_{(r)}/PTH)$	90	pmol.L ⁻¹	35	pg.mL ⁻¹
Fluxos (Controlo)	$J_{Ca(su)}$	0.21	mmol. hr ⁻¹	8.4	mg. hr ⁻¹
	$J_{P(su)}$	1.27	mmol. hr ⁻¹	39.4	mg. hr ⁻¹
	$J_{Ca(os)}$	3.3	mmol. hr ⁻¹	132	mg. hr ⁻¹
Coeficientes de $xf(x_T)$ Polynomial 2º grau em X_T	A_{Ca}	0.01769	L.hr ⁻¹	0.1769	dL.hr ⁻¹
	B_{Ca}	0.01482	L.hr ⁻¹	0.1482	dL.hr ⁻¹
	C_{Ca}	0.78011	L.hr ⁻¹	7.8011	dL.hr ⁻¹
	A_P	0.03322	L.hr ⁻¹	0.3322	dL.hr ⁻¹
	B_P	0.38163	L.hr ⁻¹	3.8163	dL.hr ⁻¹
	C_P	0.06617	L.hr ⁻¹	0.6617	dL.hr ⁻¹
Limiar	P_{thr}	0.11	mM	3.26	mg.dL ⁻¹

ANEXO V – VALORES DAS VARIÁVEIS E DOS PARÂMETROS UTILIZADOS NO ESTADO DE REFERÊNCIA DAS SIMULAÇÕES

	Bourrel	Schmitt (hipercalcemia)	Schmitt (hipocalcemia)	Goodman	Khosla (Normais)	Khosla (HHF)	Copp
CCas0	2.13	2.48	2.45		2.24	2.53	
FCaOSR	22	29.55	22.7		23	34	
FPTH_DH_R	90						
CPTHs0		29.55	22.7	26	23	34	
FE_PTH_R		22.7	22.7		23	34	
FPTH_Ca_S		800	1.15	1.5	5	6	
FPTH_DH_R		29.55	90	26	90	35	
TPTH		200	30	50	150	400	
FCaSOOS		1					2
TAUP				1			12
FCaOSS					0.05	0.05	
fPTHd					0.85	0.67	
FcaSU0							0.41
FCaSUS2							2.13

BIBLIOGRAFIA

- ¹ Ellis K. Human body composition: In vivo methods (2000). *Physiol. Rev.*, 80, 649-680
- ² Sheppard CW. (1962) Theory of tracer experiments in multi-compartment systems. In: Sheppard CW ed. Basic principles of the tracer method. Introduction to mathematical tracer kinetics, New York: John Wiley & Sons, Inc: 30-46
- ³ Rizzoli R, Bonjour JP (1999) Physiology of calcium and phosphate homeostasis In: Dynamics of bone and cartilage metabolism. Seibel M, Robins S, Bilezikian J eds. Academic Press; San Diego; 247-260
- ⁴ Compston, JE Sex Steroids and Bone. (2001). *Physiol. Rev.* 81, 419 – 447.
- ⁵ Parfitt, AM (1993). Calcium Homeostasis. In: Mundy GR, Martin TJ eds. Physiology and pharmacology of bone, Berlin: Springer-Verlag; vol 107:1-66
- ⁶ Ferreira HG e Lew VL (1977). Passive Ca transport and cytoplasmic Ca buffering in intact red cells. in "Membrane Transport in Red Cells" Ellory JC and Lew VL Eds. pp. 53 – 91. Acad. Press. London
- ⁷ Reeve, J. (1978). The turnover time of calcium in the exchangeable pools of bone in man and the long term effect of a parathyroid hormone fragment. *Clin. Endocrinol.* 8, 445-455
- ⁸ Williams, RJP (1970) The biochemistry of sodium, potassium, magnesium and calcium. *Quarterly Rev. Chem.* 24, 331 – 365
- ⁹ Berridge, MJ (1997). Elementary and global aspects of calcium signalling. *J. Physiol.* 499, 290 – 306.
- ¹⁰ Gordon AM, Homsher, E, Regnier, M (2000), Regulation of Contraction in Triated Muscle, *Physiol. Rev.* , 80, 853 – 924.
- ¹¹ Bajjalieh SM, Scheller RH. (1995). The Biochemistry of Neurotransmitter Secretion, 270, 1971 – 1974
- ¹² Brown EM, MacLeod R. J . (2001). Extracellular Calcium Sensing and Extracellular Calcium Signaling, *Physiol. Rev.* 81, 239 – 297.
- ¹³ Ackerman, MJ, Clapham, DE. (1977) Ion Channels – Basic Science and Clinical Disease. *N. Eng. J. Med.*, 336, 1575 – 1586.
- ¹⁴ Bile DD and Pillai S. (1993). Vitamin D, Calcium and Epidermal Differentiation, 14, 3 – 19

-
- ¹⁵ Szalai G, Krishnamurthy R, Hajnóczky G. (1999), *The EMBO J.* 18, 6349 – 6361
- ¹⁶ Takahashi A, Camacho, P. Lechleiter, JD, Herman B, (1999), Measurement of Intracellular Calcium, 79, 1089 – 1125.
- ¹⁷ Garcia, ML, Strehler, EE. (1999)., Plasma membrane calcium ATPases as critical regulators of calcium homeostasis during neuronal cell function. *Frontiers in Bioscience*, 4, d869 – 882.
- ¹⁸ Riggs DS (1963). *The mathematical approach to physiological problems*. Williams and Wilkins, Baltimore
- ¹⁹ Schneider V, Oganov V, LeBlanc A, Rakmonov A, Taggart L, Bakulin A, Huntoon C, Grigorev A Varonin I (1995) Bone an body mass changes during space flight. *Acta Astronaut.* , 36, 463 – 466
- ²⁰ Turner. RT (2000). Physiology of Microgravity environnement . *J. Appl. Physiol.* 89, 840 – 847
- ²¹ Ogata N, Chikazu D, Kubota N, Terauchi Y, Tobe K, Azuma Y, Ohta T, Kadowaki T, Nakamura K, Kawaguchi H. (2001). Insulin receptor substrate-1 in osteoblast is indispensable for maintaining bone turnover *J. Clin. Invest.*, 105: 935 – 943
- ²² Ohlsson C, Bengtsson B-A, Isaksson OGP, Andreassen TT, and Słotweg MC . (1998). Growth Hormone and Bone. *Endocr. Rev.*, 19: 55 – 79
- ²³ Pearce G, Tabensky DA, Delmas PD, Baker HWG, and Seeman E. (1998) Corticosteroid-Induced Bone Loss in Men. *J. Clin. Endocrinol. Metab*; 83: 801 - 806
- ²⁴ Britto JM, Fenton AJ, Holloway WR, and Nicholson GC. (1994). Osteoblasts mediate thyroid hormone stimulation of osteoclastic bone resorption *Endocrinology*, 134: 169 – 176
- ²⁵ Freeman ME, Kanyicska B, Lerant A, Nagy G. (2000). Prolactin: Structure, Function, and Regulation of Secretion. *Physiol Rev*, 80: 1523 - 1631
- ²⁶ Orloff JJ, Reddy D, Papp AE de, Yang KH, Soifer NE, and Stewart AF, (1994). Parathyroid hormone-related protein as a prohormone: posttranslational processing and receptor interactions *Endocr. Rev.*, 1994; 15: 40 - 60.
- ²⁷ Cruz DN, (2001). The renal tubular Na–Cl co-transporter (NCCT): a potential genetic link between blood pressure and bone density? *Nephrol. Dial. Transplant.*, 16: 691 – 694
- ²⁸ Navia JM and Harris SS (1980). Vitamin A influence on calcium metabolism and calcification. *Ann. N. Y. Acad. Sc.* 355, 45-57

-
- ²⁹ Orwoll ES, Klein RF (1995). Osteoporosis in men. *Endocr. Rev.*, 16: 87 - 116.
- ³⁰ Civitelli R, Ziambaras K, Leelawattana R (1998) Pathophysiology of calcium, phosphate, and magnesium absorption. In: Avioli L, Krane S, eds. *Metabolic Bone Disease and clinically related disorders*, 3rd ed. Academic Press, San Diego; 165-206
- ³¹ Lang F 1996 Ca²⁺, Mg²⁺, and phosphate metabolism In: Greger R, Windhorst V, eds. *Comprehensive human physiology*. Berlin: Springer; 1595-1609
- ³² Rose, BD, Post, TW. (2001) *Clinical Physiology of Acid-Base and Electrolyte Disorders*, 5th ed, McGraw-Hill, New York
- ³³ Dennis V 1992 Phosphate homeostasis In: Windhager E, ed. *Handbook of Physiology*, section 8. New York: Oxford University Press; 1785-1815
- ³⁴ Custer M, Spindler B, Verrey F, Murer H, Biber J (1997) Identification of a new gene product (diphor-1) regulated by dietary phosphate. *Am J Physiol-Renal Physiol* 42, F801-F806.
- ³⁵ Murer H, Hernando N, Forster I, Biber J (2000) Proximal tubular phosphate reabsorption: molecular mechanisms. *Physiol Rev.* 80: 1373-1409
- ³⁶ Mann S (2001) Organic matrix-mediated biomineralization In: Compton R, Davies S, Evans J eds. *Biomineralization. Principles and concepts in bioinorganic materials chemistry*. Oxford University Press, Oxford: 89-124
- ³⁷ Mann, S (1983) Mineralization in Biological Systems. *Structure and Bonding*, 54, 127 – 174
- ³⁸ Eriksen EF, Vesterby A, Kassem M, Melsen F, Mosekilde, L. (1993). *Hand. Exp. Pharm.* 107, 67 – 110
- ³⁹ Martin, TJ, Findlay, DM, Heath, JK ad NG, KW (1993). Osteoblasts: Differentiation and Function. *Hand. Exp. Pharm.* 107, 149 – 184.
- ⁴⁰ Chambers, TJ. (1991). Regulation of osteoclast development and function”in “Biology and Physiology of the osteoclast”, Rifkin, Br and Gay, CV Eds. 105 – 128., CRC Press. Boca Raton Baron
- ⁴¹ Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ (1999) Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the Tumor Necrosis Factor Receptor and ligand families. *End Reviews* 345- 357

-
- ⁴² R, Ravessloot, J-H, Neff, L, Chakraborty, M. Chatterjee D. Lomri, A., Horne, W. (1993). Cellular and molecular biology of the osteoclast. in;"Cellular and molecular biology of bone" Noda, M. Ed. 446- 497, Acad. Press. San Diego
- ⁴³ Weiner S Wagner H D. (1998). The material Bone: Structure-mechanical function relations. Annu. Rev. Mater. Sci. 28, 271 – 298
- ⁴⁴ Swartz SM, Pargker A Huo C (1998). Theoretical and empirical scaling patterns and topological homology in boné trabeculae. J. Exp. Biol. 201, 573 – 590.
- ⁴⁵ Mullender MG, Huiskes R, Weinans (1994). A physiological approach to the simulation of boné remodeling as a self-organizational control process. J. Biomech. 27, 1389 – 1394
- ⁴⁶ Mullender MG, Huiskes R. (1997). Osteocytes and bone lining cells: which are the best candidates for mechano – sensors in cancelous none?. Bone, 20, 527 – 532
- ⁴⁷ Stolk J, Verdonschot M, Cristofolini L Toni A , Huiskes R. (2002). Finite element and experimental models of cemented hip joint reconstructions can produce similar bone and cement strains in pre-clinical tests. J. Biomech. 35, 499 – 510
- ⁴⁸ Lanyon, LE. (1993).Sekeletal Responses to Physical Loadin. Hand. Exp. Pharm.107, 485 - 506
- ⁴⁹ Cohn DV, Kumarasamy R, Ramp WK (1986). Intracellular processing and secretion of parathyroid gland proteins. Vitam. Horm. 43, 283-316.
- ⁵⁰ Brown, EM. (1991). Extracellular Ca^{2+} sensing, regulation of parathyroid cell function and the role of Ca^{2+} and other ions as extracelular (first) messengers. Physiol. Rev. 71, 371 – 411.
- ⁵¹ Brent, GA, Leboff, MS, Seely, EW, Conlin, PR,Brown EM (1988). Relationship between the concentration and the rate of change of calcium and serum intact parathyroid hormone levels in normal humans. J. Clin. End. Metab. 67, 944 – 950
- ⁵² Demay, M., Juppner, H, Aboud-Samra, A-B, Segre, G, Ktonenberg, H. (1993) . Parathyroid Hormone Biosynthesis and action. in Cellular and Molecular Biology of Bone Noda, M. Ed. Academic Press.San Diego
- ⁵³ Eisman JA, Prince RL, Wark JD, Moseley JM 1979 Modulation of plasma 1,25-dihydroxyvitamin D in man by stimulation and suppression tests. Lancet 2:931-933

-
- ⁵⁴ Mundy GR 1993 Hormonal factors which regulate bone In: Mundy GR, Martin TJ, eds. Physiology and pharmacology of bone, Berlin: Springer-Verlag; vol 107:215-248
- ⁵⁵ Nordin B, Peacock M 1969 Role of kidney in regulation of ECC calcium. *Lancet* 2:1280-1283
- ⁵⁶ Jones G, Strugnell SA, DeLuca H 1998 Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev* 78: 1193-1231
- ⁵⁷ Brown MB 1983 Four parameter model of the sigmoidal relationship between parathyroid hormone release and ECC calcium concentration in normal and abnormal parathyroid tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 56:572-581
- ⁵⁸ Russell J, Lettieri D, Sherwood LM 1986 Suppression by 1,25(OH)₂D₃ of transcription of the pre-parathyroid hormone gene. *Endocrinology* 119: 2864-2866
- ⁵⁹ Bikle DD, Gee E, Halloran B et al. (1986) Assessment of the free fraction of 25-hydroxyvitamin D in serum and its regulation by albumin and the vitamin D-binding protein. *J Clin Endocrinol Metab* 1986; 63:954-959
- ⁶⁰ Tanaka Y, DeLuca HF (1973) The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. *Arch Biochem Biophys*; 154:566-574
- ⁶¹ Canalejo A, Almaden Y, Torregrosa V, Gomez-Villamandos JC, Ramos B, Campistol JM, Felsenfeld AJ, Rodriguez M 2000 The in vitro effect of calcitriol on parathyroid cell proliferation and apoptosis. *J Am Soc Nephrol* 11:1865-1872
- ⁶² Holick, MF, Adams JS. (1998). Vitamin D metabolism and biological function In *Metabolic Bone Disease and Clinically Related Disorders*. Avioli LV e Krane SM, Eds. Academicpress, San Diego: 123 – 164.
- ⁶³ Bronner F, Pansu D (1999) Nutritional aspects of calcium absorption. *J Nutr.* 129, 9-12
- ⁶⁴ Bronner F (2003) Mechanisms of intestinal calcium absorption *J Cell Biochem*, 88, 387-393
- ⁶⁵ Cromphaut S, Dewerchin M, Hoenderop J, Stockmans I, Van Herck E, Kato S, Bindels R, Collen D, Carmeliet P, Bouillon R, Carmeliet G (2001) Duodenal calcium absorption in vitamin D receptor-knockout mice: Functional and molecular aspects. *PNAS*, 98, 13324-13329
- ⁶⁶ Murer H, Hernando N, Forster L, Biber J (2001) Molecular mechanisms in proximal tubular and small intestine phosphate reabsorption (plenary lecture). *Mol Membr Biol*, 18, 3-11

-
- ⁶⁷ Brown EM (1992) Kidney and Bone: Physiological and pathophysiological relationships In: Handbook of Physiology, section 8: (Renal Physiology), Windhager E ed., Oxford University Press, 1855-1916
- ⁶⁸ Peng JB, Brown EM, Hediger MA (2003) Epithelial Ca^{2+} entry channels: Transcellular Ca^{2+} transport and beyond. *J Physiol* 551(3):729-740
- ⁶⁹ Murer H, Hernando N, Forster L, Biber J (2001) Molecular mechanisms in proximal tubular and small intestine phosphate reabsorption (plenary lecture). *Mol Membr Biol* 18(1):3-11
- ⁷⁰ Loghman-Adham M (1997) Adaptation to changes in dietary phosphorus in health and in renal failure. *J Lab Clin Med* 129(2): 176-88
- ⁷¹ Walton RJ, Bijvoet OLM 1975 Nomogram of derivation of renal threshold phosphate concentration. *Lancet* 2:309-310
- ⁷² Cali, JP, Bowers GN, Young DS (1973) A referee method for the determination of total calcium in serum. *Clin Chem* 19, 1208-1213
- ⁷³ Welch MW, Hamar DW, Fettman MJ (1990) Method comparison for calcium determination by flame atomic absorption spectrophotometry in the presence of phosphate. *Clin Chem* 36, 351-354
- ⁷⁴ Janssen JW, Helbing AR (1991) Arsenazo III: An improvement of the routine calcium determination in serum. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 34, 197-201
- ⁷⁵ Payne R, Little AJ, Williams RB, Milner JR (1973) Interpretation of serum calcium in patients with abnormal serum proteins. *Br Med J* 4, 643-646
- ⁷⁶ Husdan H, Rapoport A, Locke S (1973) Influence of posture on the serum concentration of calcium. *Metab Clin Exp*, 22, 788-797
- ⁷⁷ Vanstapel FJ, Lissens WD (1984). Free ionised calcium – a critical survey. *Ann Clin Biochem*; 21, 339-351
- ⁷⁸ Bowers GN, Brassard C, Sena SF (1986) Measurement of ionised calcium in serum with ion-selective electrodes: A mature technology that can meet the daily service needs. *Clin Chem*; 32, 1437-1447
- ⁷⁹ Crook M, Swaminathan R (1996) Disorders of plasma phosphate and indications for its measurement. *Ann. Clin Biochem*; 33, 376-396

-
- ⁸⁰ Gao P, Schmidt-Gayk H, Dittrich K, Nolting B, Maier A, Roth HJ, Seemann O, Reichel H, Ritz E, Schilling T (1996) Immunochemiluminometric assay with two monoclonal antibodies against the N-terminal sequence of human parathyroid hormone. *Clin Chim Acta*; 245, 39-59
- ⁸¹ Brown RC, Aston JR, Weeks I, Woodhead JS (1987) Circulating intact parathyroid hormone measured by a two-site immunochemiluminometric assay. *J Clin Endocrinol Metab*; 65, 407-414
- ⁸² Takeuchi A, Ishida Y, Sekimoto H, Masuda S, Okano T, Nishiyama S, Matsuda I, Kobayashi T (1997). Simplified method for the determination of 25-hydroxy and 1 α , 25-dihydroxy metabolites of vitamins D2 and D3 in human plasma. Application to nutritional studies. *J. Chromatogr. B*; 691, 313-319
- ⁸³ Schmidt-Gayk H (1999) Measurement of calcium, phosphate, parathyroid hormone, and vitamin D In: Seibel M, Robins S, Bilezikian J eds. *Dynamics of bone and cartilage metabolism*, San Diego: Academic Press; 375-410
- ⁸⁴ Haykin S, Van Veen B (1999) *Signals & Systems*. John Wiley & Sons
- ⁸⁵ Marx SJ 2000 Hyperparathyroid and hypoparathyroid disorders. *N Engl J Med* 343: 1863-1875
- ⁸⁶ Wermers RA, Khosla S, Atkinson EJ, Hodgson SF, O'Fallon WM, Melton LJ3rd 1997 The rise and fall of primary hyperparathyroidism: a population based study in Rochester, Minnesota, 1965-1992. *Ann Intern Med* 126:433-40
- ⁸⁷ Lundgren E, Rastad J, Thrufjell E, Akerstrom G, Ljunghall S 1997 Population-based screening for primary hyperparathyroidism with serum calcium and parathyroid hormone values in menopausal women. *Surgery* 121:287-94
- ⁸⁸ Bringhurst FR, Demay MB, Kronenberg HM 2003 Hormones and disorders of mineral metabolism. In: *Williams Textbook of Endocrinology* *
- ⁸⁹ Tahara H, Smith AP, Gas RD, Cryns VL, Arnold A 1996 Genomic localization of novel candidate tumor suppressor gene loci in human parathyroid adenomas. *Cancer Research* 56:599-605
- ⁹⁰ His E, Zukerberg LR, Yang WI, Arnold A 1996 Cyclin D1/PRAD1 expression in parathyroid adenomas: an immunohistochemical study. *J Clin Endocrinol Metab* 81:1736-1739

-
- ⁹¹ Carling T, Correa P, Hessman O, Hedberg J, Skogseid B, Lindberg D, Rastad J, Westin G, Akerstrom G 1998 Parathyroid MEN1 gene mutations in relation to clinical characteristics of nonfamilial primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 83: 2960-2963
- ⁹² Rao SD, Han ZH, Phillips ER, Palnitkar S, Parfitt AM 2000 Reduced vitamin D receptor expression in parathyroid adenomas: implications for pathogenesis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 53:373-81
- ⁹³ Carling T, Rastad J, Szabó E, Westin G, Akerstrom G 2000 Reduced parathyroid vitamin D receptor messenger ribonucleic acid levels in primary and secondary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 85:2000-2003
- ⁹⁴ Marx SJ, Attie MF, Levine MA, Spiegel AM, Downs RW Jr, Lasker RD 1981 The hypocalciuric or benign variant of familial hypercalcemia: clinical and biochemical features in fifteen kindreds. *Medicine (Baltimore)*;60:397-412
- ⁹⁵ Pollak MR, Brown EM, Chou YH, Hebert SC, Marx SJ, Steinmann B, Levi T, Seidman CE, Seidman JG. 1993 Mutations in the human Ca(2+)-sensing receptor gene cause familial hypocalciuric hypercalcemia and neonatal severe hyperparathyroidism. *Cell* ;75:1297-303
- ⁹⁶ Khosla S, Ebeling PR, Firek AF, Burritt MM, Kao PC, Heath III H 1993 Calcium infusion suggests a "set-point" abnormality of parathyroid gland function in familial benign hypercalcemia and more complex disturbances in primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 76: 715-720
- ⁹⁷ Nordenstrom J, Strigard K, Perbeck L, Willems J, Bagedahl-Strindlund M, Linder J 1992 Hyperparathyroidism associated with treatment of manic-depressive disorders by lithium. *Eur J Surg*. 158:207-11
- ⁹⁸ Mallette LE, Khouri K, Zengotita H, Hollis BW, Malini S. 1989 Lithium treatment increases intact and midregion parathyroid hormone and parathyroid volume *J Clin Endocrinol Metab*. 68:654-60
- ⁹⁹ Brown EM. 1981 Lithium induces abnormal calcium-regulated PTH release in dispersed bovine parathyroid cells *J Clin Endocrinol Metab*. 52:1046-8.
- ¹⁰⁰ Haden ST, Stoll AL, McCormick S, Scott J, Fuleihan G el-H. 1997 Alterations in parathyroid dynamics in lithium-treated subjects *J Clin Endocrinol Metab*. 82:2844-8

-
- ¹⁰¹ Garrett IR, Durie BG, Nedwin GE, Gillespie A, Bringman T, Sabatini M, Bertolini DR, Mundy GR 1987 Production of lymphotoxin, a bone-resorbing cytokine, by cultured human myeloma cells. *N Engl J Med.* 27;317:526-32
- ¹⁰² Stewart AF, Horst R, Deftos LJ, Cadman EC, Lang R, Broadus AE 1980 Biochemical evaluation of patients with cancer-associated hypercalcemia: evidence for humoral and nonhumoral groups *N Engl J Med.* 11;303:1377-83
- ¹⁰³ Kruse K, Schutz C. 1993 Calcium metabolism in the Jansen type of metaphyseal dysplasia *Eur J Pediatr.* 152:912-5.
- ¹⁰⁴ Schipani E, Kruse K, Juppner H 1995 A constitutively active mutant PTH-PTHrP receptor in Jansen-type metaphyseal chondrodysplasia. *Science.* 268(5207):98-100
- ¹⁰⁵ Parfitt AM, Schipani E, Rao DS, Kupin W, Han ZH, Juppner H. 1996 Hypercalcemia due to constitutive activity of the parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor: comparison with primary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab.* 81:3584-8.
- ¹⁰⁶ Schipani E, Lanske B, Hunzelman J, Luz A, Kovacs CS, Lee K, Pirro A, Kronenberg HM, Juppner H. 1997 Targeted expression of constitutively active receptors for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide delays endochondral bone formation and rescues mice that lack parathyroid hormone-related peptide. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 94:13689-94
- ¹⁰⁷ Pettifor JM, Bikle DD, Cavaleros M, Zachen D, Kamdar MC, Ross FP 1995 Serum levels of free 1,25-dihydroxyvitamin D in vitamin D toxicity. *Ann Intern Med.* 122:511-3
- ¹⁰⁸ Bell NH 1998 Renal and nonrenal 25-hydroxyvitamin D-1alpha-hydroxylases and their clinical significance *J Bone Miner Res.* 13:350-3.
- ¹⁰⁹ Auwers J, Bouillon R (1986) Mineral and bone metabolism in thyroid disease: a review. *Q J Med* 60: 737-752
- ¹¹⁰ Valentic JP, Elias AN, Weinstein GD (1986) Hypercalcemia associated with oral isotretinoin in the treatment of severe acne. *JAMA* 250: 1899-1900
- ¹¹¹ Muls E, Bouillon R, Boelaert J (1982) Etiology of hypercalcemia in a patient with Addison's disease. *Calcif Tissue Int;* 34: 523-526

-
- ¹¹² Christensson T, Hellstrom K, Wengle B (1977) Hypercalcemia and primary hyperparathyroidism: prevalence in patients receiving thiazides as detected in a health screen. *Arch Intern Med*; 298:577-581
- ¹¹³ Beall DP, Scofield RH (1995) Milk-alkali syndrome associated with calcium carbonate consumption. *Medicine*; 74:89-96
- ¹¹⁴ Stewart AF, Alder M, Byers CM (1982) Calcium homeostasis in immobilization: an example of resorptive hypercalciuria. *N Engl J Med*; 306:1139-1140
- ¹¹⁵ Coburn JW, Salusky IB (1994) Hyperparathyroidism in renal failure. In: Bilezikian JP ed. *The Parathyroids*. New York, Raven Press: 721-745
- ¹¹⁶ Betterle C, Pra C, Mantero F, Zanchetta R (2002) Autoimmune Adrenal Insufficiency and Autoimmune Polyendocrine Syndromes: Autoantibodies, Autoantigens, and Their Applicability in Diagnosis and Disease Prediction. *Endocrine Reviews* 23:327-364
- ¹¹⁷ Baldini A (2002) DiGeorge Syndrome: the use of model organisms to dissect complex genetics. *Human Molecular Genetics*; 11:2363-2369
- ¹¹⁸ Albright F, Burnett CH, Smith PH (1942) Pseudo-hypoparathyroidism – an example of “Seabright-Bantam syndrome”. *Endocrinology*; 30:922-932
- ¹¹⁹ Bastepe M, Juppner H (2003). Pseudohypoparathyroidism and mechanisms of resistance towards multiple hormones: molecular evidence to clinical presentation. *J Clin Endocrinol Metab*; 88: 4055-4058
- ¹²⁰ Arnaud C, Majer R, Reade T (1970) Vitamin D dependency: an inherited postnatal syndrome with secondary hyperparathyroidism. *Pediatrics*; 46:871-880
- ¹²¹ Kitnaka S, Takeyama KI, Muryama A (1998) Inactivating mutations in the 25-hydroxyvitamin D, 1 α -hydroxylase gene in patients with pseudovitamin D-deficiency rickets. *N Engl J Med*; 338:653-661
- ¹²² Fraser D, Kooh SW, Kind HP (1973) Pathogenesis of hereditary vitamin-D-dependent rickets: an inborn error of vitamin D metabolism involving defective conversion of 25-hydroxyvitamin D to 1 α ,25-dihydroxyvitamin D. *N Engl J Med*; 289:817-822
- ¹²³ Malloy P, Pike W, Feldman D (1999). The vitamin D receptor and the syndrome of hereditary 1,25-dihydroxyvitamin D-resistant rickets. *Endocrine Rev*; 20:156-188

-
- ¹²⁴ Pearce S, Williams C, Kifor O (1996) A familial syndrome of hypocalcemia with hypercalciuria due to mutations in the calcium-sensing receptor. *N Engl J Med*; 335:1115-1122
- ¹²⁵ Leinhardt A, Garabedian M, Bai M A large homozygous or heterozygous in-frame deletion within the calcium-sensing receptor's carboxylterminal cytoplasmic tail that causes autosomal dominant hypocalcemia. *J Clin Endocrinol Metab*; 85:1695-1702
- ¹²⁶ Cobelli C, Federspil G, Pacini G, Salvan A, Scandarelli C 1982 An integrated mathematical model of the dynamics of blood glucose and its hormonal regulation. *Math Biosci* 58:27-60
- ¹²⁷ Biermann E 1994 DIACATOR: simulation of metabolic abnormalities of type II diabetes mellitus by use of a personal computer. *Comput Methods Programs Biomed* 41: 217-229
- ¹²⁸ Schmidt-Gayk H 1999 Measurements of calcium, phosphate, parathyroid hormone, and vitamin D. In: Seibel MJ, Robins SP, Bilezikian JP, eds. *Dynamics of bone and cartilage metabolism*, San Diego: Academic Press; 375-399
- ¹²⁹ Sheikh MS, Sciller LR, Fordtran JS 1990 In vivo intestinal absorption of calcium in humans. *Miner Electrolyte Metab* 16:130-146
- ¹³⁰ Fraser DR 1980 Regulation of the metabolism of vitamin D. *Physiol Rev* 60:551-613
- ¹³¹ Charette W 1969 Control systems theory applied to metabolic homeostatic systems and the derivation and identification of mathematical models. PhD Thesis, California Institute of Technology, Pasadena, CA
- ¹³² Lew VL, Ferreira HG, Moura T 1979 The behaviour of transporting epithelial cells. I. Computer analysis of a basic model. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 206: 53-83
- ¹³³ Brasier AR, Wang CA, Nussbaum SR. (1988) The recovery of Parathyroid hormone secretion after parathyroid adenectomy. *J. Cl. Endocr. Metab.* 66, 495 – 500
- ¹³⁴ Spiegel, MR, Stephens, LJ (1999). *Statistics, Schuam's Outline Series*, Macgraw- Hill , Nova Yorque, pp 311-344.
- ¹³⁵ Caro, CG, Pedley, TJ, Schroter, RC Seed, WA (1978). *The Mechanics of the Circulation*. Oxford University Press, London
- ¹³⁶ Bourrel C, Uzzan B, Tison P, Despreaux G, Frachet B, Modigliani E, Perret GY (1993) Transient hypocalcemia after thyroidectomy. *Ann Otol Rhinol Laryngol* 102:496-501

-
- ¹³⁷ Attie MF, Gill JR, Stock JL, Spiegel AM, Downs RW, Levine MA, Marx SJ 1983 Urinary calcium excretion in familial hypocalciuric hypercalcemia. Persistence of relative hypocalciuria after induction of hypoparathyroidism. *J Clin Invest* 72:667-676
- ¹³⁸ Scmitt CP, Schaefer F, Bruch A, Veldhuis J, Schimdt-Gayk H, Stein G, Ritz E, Mehls O 1996 Control of pulsatile and tonic parathyroid hormone secretion by ionized calcium. *J Clin Endocrinol Metab* 81:4236-4243
- ¹³⁹ Goodman GG, Veldhuis JD, Berlin TR, Van Herle AJ, Juppner H, Salusky IB 1998 Calcium-sensing by parathyroid glands in secondary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 83:2765-2772
- ¹⁴⁰ Copp DH, McPherson D, McIntosh H 1960 Renal excretion of calcium in man: estimation of Tm-Ca. *Metabolism* 9:680-685
- ¹⁴¹ Levick, JR. 1995. *An introduction to Cardiovascular* Physiology*, Butterworth Heinmann, Oxford, pp. 70.
- ¹⁴² Schipani E, Langman CB, Parfitt AM, Jensen GS, Kikuchi S, Kooh SW, Cole WG, Juppner H 1996 Constitutively activated receptors for parathyroid hormone and parathyroid hormone-related peptide in Jansen's metaphyseal chondrodysplasia. *N Engl J Med* 335: 708-714
- ¹⁴³ Pollak MR, Brown EM, Estep HL, McLaine PN, Kifor O, Park J, Hebert SC, Seidman CE, Seidman JG 1994 Autosomal dominant hypocalcemia caused by a Ca^{2+} -sensing receptor gene mutation. *Nat Genet* 8:303-307
- ¹⁴⁴ Wu WI, Schwindinger WF, Aparicio LF, Levine MA 2001 Selective resistance to parathyroid hormone caused by a novel uncoupling mutation in the carboxyl terminus of $\text{G}\alpha_s$. *J Biol Chem* 276:165-171
- ¹⁴⁵ Raisz LG 1963 Regulation by calcium of parathyroid growth and secretion in vitro. *Nature* 197: 1115-1117
- ¹⁴⁶ Pitts TO, Piraino BH, Mitro R, Chen TC, Segre GV, Greenberg A, Puschett 1988 Hyperparathyroidism and 1,25-dihydroxyvitamin D deficiency in mild, moderate, and severe renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* 67: 876-881
- ¹⁴⁷ Rose BD, Post TW (2001) Renal circulation and glomerular filtration rate In: *Clinical Physiology of acid-base and electrolyte disorders*. McGraw-Hill, New York; 21:70

-
- ¹⁴⁸ Gary Stix 2003 Reverse-Engineering Clinical Biology A peacetime dividend yields drug trials on virtual patients. *Sci Am* *
- ¹⁴⁹ Puzas JE, Ishibe M 1992 Osteoblast/osteoclast coupling. In Rifkin BR, Gay CV, eds. *Biology and physiology of the osteoclast*. Boca Raton: CRC Press; 337-356
- ¹⁵⁰ Parfitt AM, Wang Q, Palnitkar S 1998 Rates of cell proliferation in adenomatous, suppressed, and normal parathyroid tissue: implications for pathogenesis. *J Clin Endocrinol Metab* 83:863-869
- ¹⁵¹ Yamaguchi S, Yachiku S, Morikawa M 1997 Analysis of proliferative activity of the parathyroid glands using proliferating cell nuclear antigen in patients with hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab* 82: 2681-2688
- ¹⁵² Waldrop, MM *Complexity*, Pinguin Books, 1992 London*
- ¹⁵³ Parfitt, AM.(1997). The hyperparathyroidism of chronic renal failure: a disorder of growth. *Kidney Intern.*52: 3 –9
- ¹⁵⁴ Courtin B, Perault-Staub AM, Staub JF 1995 Spatio-temporal self-organization of bone mineral metabolism and trabecular structure of primary bone. *Acta Biotheor* 43: 373-386
- ¹⁵⁵ Perault-Staub AM, Tracqui P, Staub JF 1992 Modeling of in vivo calcium metabolism I. Optimal cooperation between constant and rhythmic behaviours. *Acta Biotheor* 40:95-102
- ¹⁵⁶ Staub JF, Tracqui P, Lausson S, Milhaud G, Peraultstaub AM 1989 A physiological view of in vivo calcium dynamics: the regulation of a nonlinear self-organized system. *Bone* 10:77-86
- ¹⁵⁷ Tracqui P, Staub JF, Perault-Staub AM 1992 Modeling of in vivo calcium metabolism. 2. Minimal structure or maximum dynamic diversity: the interplay of biological constraints. *Acta Biotheor* 40: 103-111
- ¹⁵⁸ McCarthy ID, Yang L 1992 A distributed model of exchange processes within the osteon. *J. Biomech* 25:441-450
- ¹⁵⁹ Martin B 1994 Mathematical model for the mineralization of bone. *J Orthop Res* 12:375-383
- ¹⁶⁰ Bronner F, Stein W 1995 Calcium homeostasis: an old problem revisited. *J Nutr* 125(Suppl 7):1987S-1995S
- ¹⁶¹ Kroll MH 2000 Parathyroid hormone temporal effects on bone formation and resorption. *Bull Math Biol* 62: 163-188

-
- ¹⁶² Weiss GH, Goans RE, Gitterman M, Abrams SA, Vieira NE, Yergey AL 1994 A non-Markovian model for calcium kinetics in the body. *J Pharmacokinet Biopharm* 22:367-79
- ¹⁶³ Aubert JP, Bronner F, Richelle LJ 1963 Quantitation of calcium metabolism. *Theory J Clin Invest* 42: 885-897
- ¹⁶⁴ Staub JF, Tracqui P, Brezillon G, Milhaud G, Perault-Staub M 1988 Calcium metabolism in the rat: a temporal self-organized model. *Am J Physiol* 254:R134-R149
- ¹⁶⁵ Hurwitz S, Fishman S, Bar A, Pines M, Riesenfeld G, Talpaz H 1983 Simulation of calcium homeostasis: modeling and parameter estimation. *Am J Physiol* 245: R664-R672
- ¹⁶⁶ Hurwitz S, Fishman S, Talpaz H 1987 Model of plasma calcium regulation: system oscillations induced by growth. *Am J Physiol* 252: R1173-1181
- ¹⁶⁷ Hurwitz S 1996 Homeostatic control of plasma calcium concentration. *Crit Rev Biochem Mol Biol* 31:41-100
- ¹⁶⁸ Momsen G, Schwarz P 1997 A mathematical/physiological model of parathyroid hormone secretion in response to blood-ionized calcium lowering in vivo. *Scand J Clin Lab Invest* 57:381-394